Postverlagsort Berlin

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

BEGRÜNDET VON **W. RUHLAND** UND **H. WINKLER**

UNTER MITWIRKUNG VON
J. BONNER-PASADENA, **A. ERNST**-ZÜRICH
H. v. GUTTENBERG-ROSTOCK, **R. HARDER**-GÖTTINGEN, **O. RENNER**-MÜNCHEN
W. RUHLAND-UNTERDEUFSTETTEN, **W. SCHUMACHER**-BONN

HERAUSGEGEBEN VON
L. BRAUNER
MÜNCHEN
E. BÜNNING
TÜBINGEN

53. BAND, 3. HEFT
MIT 54 TEXTABBILDUNGEN
(ABGESCHLOSSEN AM 3. JUNI 1959)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1959

Planta (Berl.)

Preis DM 27.80

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. (Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abteilung E.) Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*. Band 48—51. Herausgegeben von *W. Ruhland, L. Brauner* und *E. Bünning*

Die Zeitschrift „Planta", Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophotographien u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Leo Brauner, München 19, Menzingerstr. 67, Botanisches Institut der Universität, oder an

Professor Dr. Erwin Bünning, Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstraße 5.

Springer-Verlag

Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3, Fernsprecher 83 03 01

und

Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28—30, Fernsprecher 27901

---

53. Band **Inhaltsverzeichnis** 3. Heft

Seite

Mohr, H., Der Lichteinfluß auf das Wachstum der Keimblätter bei *Sinapis alba* L. Mit 9 Textabbildungen 219

Doppelbaur, H. W., Studien zur Anatomie und Entwicklungsgeschichte einiger endolithischen pyrenocarpen Flechten. Mit 19 Textabbildungen 246

Stichel, E., Gleichzeitige Induktion von Sprossen und Wurzeln an in vitro kultivierten Gewebestücken von *Cyclamen persicum*. Mit 12 Textabbildungen 293

Reinert, J., Über die Kontrolle der Morphogenese und die Induktion von Adventivembryonen an Gewebekulturen aus Karotten. Mit 13 Textabbildungen 318

Eberhardt †, F., Über Beziehungen zwischen Anthocyanbildung und Stickstoffumsatz. Mit 1 Textabbildung. Aus dem Nachlaß zusammengestellt von W. Haupt 334

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Planta 53, 219—245 (1959)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen

DER LICHTEINFLUSS AUF DAS WACHSTUM DER KEIMBLÄTTER BEI *SINAPIS ALBA* L.

Von

HANS MOHR

Mit 9 Textabbildungen

(Eingegangen am 9. Februar 1959)

1. Einleitung

In den vorangegangenen Arbeiten dieser Reihe (MOHR 1957, 1959a) ist die Auffassung begründet worden, daß an der Photomorphogenese der jungen Keimlinge von *Sinapis alba* 2 Photo-Reaktionssysteme beteiligt sind. Untersucht wurde bisher der Einfluß von Strahlung zwischen 400 und 800 mμ auf die Anthocyanbildung, auf die Hemmung des Längenwachstums des Hypokotyls und auf die Haarbildung aus Epidermiszellen des Hypokotyls. In allen diesen Fällen hat sich gezeigt, daß das Reversible Hellrot-Dunkelrot-Reaktionssystem[1] (vgl. BORTHWICK u. Mitarb. 1952, 1954, HENDRICKS u. Mitarb. 1956, MOHR 1957, 1959a, b; dort weitere Literatur) zur Deutung nicht genügt, sondern daß offensichtlich noch ein anderes Photo-Reaktionssystem an der Photomorphogenese dieser Keimlinge beteiligt ist. Dieses letztere System, das wir erst nachweisen können, wenn wir über eine gewisse Zeit hinweg wirksame Strahlung von relativ hoher Intensität einstrahlen, nennen wir „Hochenergie-Reaktionssystem"[1], im Gegensatz zu dem reversiblen HR-DR-Reaktionssystem, das schon bei Einstrahlung kleiner Energiemengen des wirksamen Spektralbereichs nachzuweisen ist und das wir deshalb „Niederenergie-Reaktionssystem"[1] nennen. Die bisher aufgestellten Wirkungsspektren der HER (MOHR 1957) zeigen Gipfel im Blau und im Dunkelrot. Wir bezeichnen deshalb das Reaktionssystem als „Blau-Dunkelrot-Reaktionssystem".

Man kann auf Grund unserer bisherigen Ergebnisse annehmen, daß sowohl durch die NER wie auch durch die HER letztlich dieselbe fundamentale Änderung im Stoffwechsel der Zellen bewirkt wird, obwohl die ersten auf die Strahlungsabsorption folgenden chemischen Schritte in den beiden Reaktionssystemen offenbar verschieden sind (MOHR 1959a). Man kann weiterhin annehmen, daß die verschiedenen Photomorphosen (Anthocyanbildung, Etiolementverhinderung des Hypokotyls, Haarbildung am Hypokotyl) lediglich Manifestationen ein und

[1] Folgende Abkürzungen werden verwendet: HR = Hellrot, DR = Dunkelrot, NER = Niederenergiereaktion, HER = Hochenergiereaktion.

derselben fundamentalen Änderung im Stoffwechsel der Zellen sind, die diese Reaktionssysteme enthalten. Die Spezifität der Photomorphose (z. B. Hemmung des Hypokotylwachstums, Anthocyansynthese, Haarbildung aus gewissen Epidermiszellen) hängt dann damit zusammen, daß die Zellen, in denen an einem zentralen Punkt der Stoffwechsel eine Änderung erfährt, je nach ihrer Organ- bzw. Gewebezugehörigkeit (d. h. je nach ihrem spezifischen Differenziertsein) verschieden auf dieselbe Stoffwechseländerung reagieren. Wir werden sehen, daß sich diese Vorstellungen auch im Verlauf der vorliegenden Arbeit bewähren.

Dem „Reversiblen HR-DR-Reaktionssystem" liegt das „Reversible HR-DR-Pigmentsystem" zugrunde, dem „Blau-DR-Reaktionssystem" ein „Blau-DR-Pigmentsystem". Wir benützen folgende Formulierung für das Reversible HR-DR-Pigmentsystem:

$$P_{HR} \underset{\text{Dunkelrot}}{\overset{\text{Hellrot}}{\rightleftharpoons}} P_{DR}.$$ Vgl. Fußnote[1]

P_{DR} ist die physiologisch „aktive" Form, deren Vorhandensein die Photomorphosen im Gefolge hat.

Die vorliegende Arbeit, die sich unmittelbar an die vorangegangenen Arbeiten anschließt und mit jenen zusammen eine Einheit bildet, hat im wesentlichen folgende Ziele:

a) Es soll geprüft werden, ob eine weitere, für den Keimling sehr wichtige Photomorphose — nämlich die Förderung des Flächenwachstums der Keimblätter — auch durch diese beiden Reaktionssysteme gesteuert wird.

b) Falls diese beiden Reaktionssysteme nachweisbar sind, soll versucht werden (ähnlich wie es schon in der vorangegangenen Arbeit für die lichtabhängige Haarbildung geschehen ist, MOHR 1959a), die beiden Reaktionssysteme physiologisch weitgehend zu trennen. Dabei muß besonders beachtet werden, daß P_{HR} aus seiner Vorstufe nachgebildet wird, wenn das vorhandene P_{HR} durch HR-Bestrahlung wenigstens teilweise in P_{DR} umgewandelt wird (vgl. hierzu MOHR 1959a).

c) Wenn es sich zeigt, daß diese Trennung weitgehend durchführbar ist, so soll der Versuch gemacht werden, ein Wirkungsspektrum der HER zu bestimmen, das wenigstens näherungsweise für den Einfluß der NER korrigiert ist. Es soll also der Totaleffekt einer bestimmten Dosis monochromatischer Strahlung aufgeteilt werden in den Effekt, der auf die NER zurückgeht und in den Effekt, der auf die HER zurückgeht. Die früher (MOHR 1957) bestimmten Wirkungsspektren der HER waren nur ungenügend für den Einfluß der NER korrigiert.

[1] Folgende Abkürzungen werden verwendet: P_{HR} = Pigment mit Absorptionsgipfel im hellroten Spektralbereich, P_{DR} = Pigment mit Absorptionsgipfel im dunkelroten Spektralbereich.

2. Methodik

a) Material. Das verwendete Samenmaterial von *Sinapis alba* L., das sehr homogene Keimlingspopulationen liefert, ist dasselbe wie in der vorangegangenen Arbeit (vgl. Mohr 1959a).

b) Bestrahlungsanlagen. Alle in dieser Arbeit verwendeten Bestrahlungsanlagen sind bei Mohr und Schoser (1959) eingehend beschrieben. Bezüglich aller Einzelheiten (z. B. HR- bzw. DR-Felder, „Weißlicht"-Feld, Interferenzfilter-Monochromatorsystem, Meßtechnik) sei darauf verwiesen. Besonders erwähnt sei nur, daß das in dieser Arbeit verwendete DR mit Cellophan-Farbfiltern (nicht mit Farbgläsern!) hergestellt wurde.

c) Der allgemeine Versuchsansatz. Alle Versuche werden bei 25° C durchgeführt. Die Samen werden auf 3 Lagen Keimpapier (Charybdis-Löschpapier 9142/11) in farblosen Kunststoffbehältern („Gerda"-Kühlschrankbehälter) ausgesät. Das Keimpapier wird vor der Saat 15 Std in Leitungswasser gequollen, dann wird das freie Wasser abgegossen. Pro Behälter werden 25 Samen ausgesät (etwa äquidistant auf drei konzentrischen Kreisen mit den Radien 2,5, 1,5 und 0,5 cm). Nach der Saat werden 4 ml Leitungswasser zugefügt. Bei Beendigung der Versuche ist stets noch freies Wasser vorhanden. Die relative Luftfeuchtigkeit ist also während der Dauer der Versuche hoch und konstant. 24 Std nach der Aussaat haben praktisch alle Samen gekeimt (vgl. Abb. 1 bei Mohr 1959a). 24, 48 und 72 Std nach der Aussaat setzt die Bestrahlung ein, die maximal 6 Std dauert. Es werden die ganzen Keimlinge bestrahlt. Das Bestrahlungsprogramm ist an allen 3 Tagen dasselbe. Während der Bestrahlung sind die Gefäße mit Glasplatten, anstelle des Deckels, abgedeckt.

d) Die Auswertung. 96 Std nach der Aussaat erfolgt die Auswertung (Längen- und Breitenmessung der Keimblätter). Zu Beginn der Auswertung kommen alle Gefäße des Versuchsansatzes in einen Kühlschrank (+ 1—2° C). Die Gefäße werden dann einzeln aus dem Kühlschrank genommen. Damit soll verhindert werden, daß die Keimblätter in den Gefäßen, die erst später zur Auswertung kommen, erheblich weiter wachsen. — Die Auswertung selber ist relativ einfach und genau. Es werden die *maximale* Länge (L) und die *maximale* Breite (B) des deckenden, länger gestielten Keimblatts eines jeden Keimlings in relativen Skalenteilen bestimmt (1 Skalenteil = $1{,}6 \cdot 10^{-2}$ cm). Dies geschieht mit Hilfe eines mit einem Okularmikrometer ausgestatteten Stereomikroskops im Durchlicht (Zeiss-Opton, Trommelstellung 6, Okular 10×). Das Produkt $Q = L_m \cdot B_m$ dient als Index für den Mittelwert der Blattfläche. Q wird folgendermaßen berechnet: Es wird das arithmetische Mittel L_m der maximalen Blattlängen bestimmt, ebenso das arithmetische Mittel B_m. Die beiden Mittelwerte werden multipliziert. Da wir an einer möglichst genauen, *absoluten* Bestimmung der Blattfläche als solcher nicht interessiert sind, sondern lediglich die Veränderung des Index $L_m \cdot B_m$, der für uns die Blattfläche repräsentiert, unter dem Einfluß des Lichts studieren wollen, so haben wir neuere methodische Angaben über Blattflächenbestimmungen (Polster und Reichenbach 1958) nicht weiter berücksichtigt, sondern haben den für uns meßtechnisch und rechnerisch einfachsten Weg beibehalten. — Wir mußten darauf achten, den Wert $L_m \cdot B_m = 1100$ nicht zu überschreiten. Wird durch ein entsprechendes Bestrahlungsprogramm ein Wert induziert, der darüber hinausführt, so beobachtet man öfters Krümmungen der Blattfläche, was die Auswertung unsicher macht und außerdem andeutet, daß offenbar die Koordination des Wachstums der einzelnen Blattbestandteile gestört ist.

Ob die von uns beobachtete Zunahme von $L_m \cdot B_m$ unter Lichteinfluß erheblich auf eine gesteigerte Zellteilung oder aber im wesentlichen auf Zellwachstum zurückgeht, haben wir noch nicht untersucht. Vielleicht sind beide Phänomene beteiligt

(vgl. z. B. PARKINSON 1950 und WILLIAMS 1956). An isolierten Scheibchen aus Blättern etiolierter Bohnenkeimlinge stellte MILLER (1952) fest, daß die Ausdehnung dieser Scheibchen unter Lichteinfluß praktisch ganz auf Zellvergrößerung zurückzuführen ist.

e) Fehlerbetrachtung. Im Einzelexperiment werden pro Gefäß 25 Samen ausgesät, 20 Keimlinge verwendet, die 5 kleinsten Keimlinge (hinsichtlich der Länge des Hypokotyls!) verworfen. Letzteres geschieht deshalb, weil es zuweilen vorkommt, daß Samen nicht keimen oder daß zwar Keimung eintritt, die jungen Keimlinge jedoch verkrüppelt oder aus irgendeinem, uns unbekannten Grund nicht normal wachstumsfähig sind. 20 „normale" Keimlinge sind in jedem Fall (bei Aussaat von 25 Samen) vorhanden. In den Tabellen und Kurven dieser Arbeit sind stets Mittelwerte aus mehreren gleichsinnigen Experimenten angegeben.

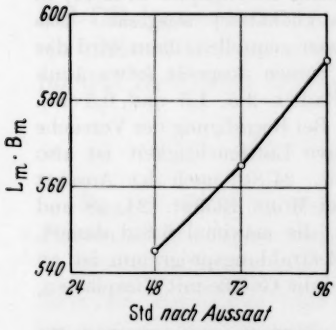


Abb. 1. Das Wachstum der Keimblätter im Dunkeln ($L_m \cdot B_m$ = Index der mittleren Blattfläche in Abhängigkeit von der Zeit nach Aussaat)

Um die Signifikanz von Differenzen beurteilen zu können, wurde für L und B der mittlere Fehler des arithmetischen Mittels bestimmt: z. B.

$$M_{L_m} = \pm\sqrt{\frac{\sum(L_i - L_m)^2}{n(n-1)}}.$$

Diese mittleren Fehler des Mittelwerts von L und B wurden nun mit Hilfe des Gaußschen Fehlerfortpflanzungsgesetzes miteinander kombiniert, und wir erhalten den mittleren Fehler von $Q = L_m \cdot B_m$ als

$$M_Q = \pm\sqrt{\left(\frac{\partial Q}{\partial L_m} \cdot M_{L_m}\right)^2 + \left(\frac{\partial Q}{\partial B_m} \cdot M_{B_m}\right)^2}$$

(vgl. z. B. KOHLRAUSCH 1955).

Bei Verwendung von 40 Keimlingen lag der nach diesem Verfahren berechnete relative, mittlere Fehler von Q im Bereich von 2%. (Diese Variabilität dürfte als gering zu bezeichnen sein, wenn man bedenkt, daß die einzelnen Keimblätter, die sich ja am intakten Keimling befinden, zur Zeit der Bestrahlung keineswegs dieselbe Lage zum Einfall der Strahlen besitzen, und daß dementsprechend die Energieabsorption der einzelnen Keimblätter auch nicht annähernd gleich sein dürfte.)

Die andere Art der Auswertung, für jedes Blatt $L \cdot B$ zu berechnen und dann den Mittelwert $(L \cdot B)_m$ und dessen mittleren Fehler zu bilden, ist sehr umständlich. Sie wurde nur testweise vorgenommen und ergab sehr ähnliche Resultate sowohl hinsichtlich des Mittelwerts wie auch hinsichtlich des mittleren Fehlers von $(L \cdot B)_m$.

f) Das Wachstum der Keimblätter im Dunkeln und der Zeitpunkt der Bestrahlung. Das Wachstum der Keimblätter im Dunkeln ist sehr gering (Abb. 1). Die Kurve deutet darauf hin, daß die zeitliche Zunahme von $L_m \cdot B_m$ zwischen 48 und 96 Std nach Aussaat weitgehend konstant ist. — Da wir an der Ausarbeitung eines direkten morphogenetischen Lichteffektes interessiert sind, so sind für uns indirekte Einflüsse des Lichtes über die Photosynthese störend. Wir versuchen, eine erhebliche indirekte Beeinflussung des Blattwachstums über die Photosynthese durch folgende Vorkehrungen zu vermeiden: 1. Wir belichten nur so lange, wie für ein genaues Studium des photomorphogenetischen

Effekts unbedingt erforderlich ist. 2. Wir belichten zu einem Zeitpunkt der Keimlingsentwicklung, wo der Keimling noch relativ große Mengen an Reservestoffen enthält und wo das Blattwachstum offenbar noch nicht durch Nährstoffversorgung limitiert wird. Dies dürfte in dem Bereich der Fall sein, wo die zeitliche Zunahme von $L_m \cdot B_m$ konstant ist. Entsprechend führen wir unsere Bestrahlungsprogramme 24, 48 und 72 Std nach der Aussaat durch. 96 Std nach der Aussaat erfolgt die Ausmessung der Keimblätter. Innerhalb dieses Zeitraumes ist auch die Wachstumsgeschwindigkeit der Hypokotyle von *Sinapis alba* im Dunkeln konstant (vgl. die Abb. 1 bei Mohr 1957).

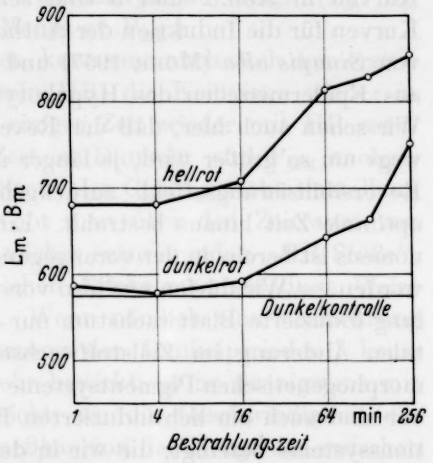


Abb. 2. $L_m \cdot B_m$ (= Index der mittleren Blattfläche) in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit im Standard-Hellrot- bzw. -Dunkelrot-Feld

3. Experimentelle Ergebnisse

a) Die Grundexperimente im HR- und im DR-Feld (hier und in den Versuchen der folgenden Abschnitte erfolgt die Bestrahlung 24, 48 und 72 Std nach Aussaat mit demselben Bestrahlungsprogramm). Die Keimlinge werden im HR- bzw. DR-Standard-Feld bei konstanter Intensität verschieden lange bestrahlt. Abb. 2 zeigt die gewonnenen Energie-Effekt-Kurven, Abb. 3 zeigt die Reversibilisierung einer bestimmten HR-Induktion durch nachfolgende DR-Bestrahlung verschiedener Dauer. Die Reversibilisierung der HR-Induktion ist praktisch vollständig (am Tiefpunkt keine signifikante Abweichung von der Dunkelkontrolle!). Wir werden im nächsten Abschnitt sehen, daß es sinnvoll ist, auch hier die Annahme zu machen, daß die Reversibilisierung nicht bis zum Dunkelzustand zurückgeht, sondern nur bis zu dem durch das verwendete DR gegebenen Gleichgewichtszustand des Reversiblen HR-DR-Pigmentsystems. Dieses Gleichgewicht, bei dem nur wenig mehr

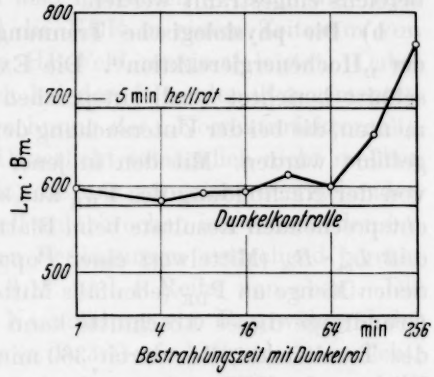


Abb. 3. Die „Reversibilisierung" der Hellrotwirkung durch nachfolgende Dunkelrotbestrahlung. Diese setzt sofort nach Beendigung der 5minutigen Hellrotvorbelichtung ein

P_{DR} vorhanden ist als beim Dunkelgleichgewicht, kann im Fall des Blattwachstums (im Gegensatz zur Haarbildung!) vom Dunkelgleichgewicht nicht unmittelbar unterschieden werden (Abb. 2, untere Kurve). Die Kurven in Abb. 2 und 3 sind sehr ähnlich wie die entsprechenden Kurven für die Induktion der Anthocyanbildung bei jungen Keimlingen von *Sinapis alba* (MOHR 1957) und für die Induktion der Haarbildung aus Epidermiszellen des Hypokotyls dieser Keimlinge (MOHR 1959a). Wir sehen auch hier, daß der Reversibilisierungseffekt des DR keineswegs um so größer wird, je länger man DR einstrahlt, sondern daß der Reversibilisierungseffekt zurückgeht, wenn man über eine hierfür optimale Zeit hinaus bestrahlt. Eine eingehende Deutung dieses Phänomens ist bereits in der vorangegangenen Arbeit (MOHR 1959a) gegeben worden. — Wir dürfen uns also vorstellen, daß auch das durch Bestrahlung induzierte Blattwachstum nur eine Manifestation einer fundamentalen Änderung im Zellstoffwechsel jener Zellen ist, die die photomorphogenetischen Pigmentsysteme besitzen (vgl. die Einleitung). Offenbar sind auch am lichtinduzierten Blattwachstum wieder jene 2 Reaktionssysteme beteiligt, die wir in den vorangegangenen Arbeiten schon kennengelernt haben: Das Reversible HR-DR-Reaktionssystem (NER) und eine Hochenergiereaktion, die sich erst meßbar auf das Blattwachstum auswirkt, wenn größere Energiemengen des wirksamen Spektralbereichs eingestrahlt werden.

b) Die physiologische Trennung der „Niederenergiereaktion" von der „Hochenergiereaktion". Die Experimente, über die in diesem Abschnitt berichtet wird, entsprechen weitgehend den analogen Experimenten, die bei der Untersuchung der Haarbildung (MOHR 1959a) durchgeführt wurden. Mit den in jener Arbeit entwickelten Vorstellungen von der Nachbildung des P_{HR} aus seiner Vorstufe deuten wir auch die entsprechenden Resultate beim Blattwachstum. Wir können annehmen, daß $L_m \cdot B_m$ (Mittelwert einer Population) eine Funktion der vorhandenen Menge an P_{DR} (ebenfalls Mittelwert einer Population) ist. — Die Grundfrage dieses Abschnitts kann man z. B. so formulieren: Wieviel des Totaleffekts, der durch 360 min HR induziert wird, geht auf die Wirkung der NER und wieviel geht auf die Wirkung der HER zurück? — Wir versuchen, die Frage mit demselben Ansatz zu lösen wie in der vorangegangenen Arbeit: Aus Abb. 2 (obere Kurve) können wir entnehmen, daß schon durch 1 min HR das Reversible HR-DR-Reaktionssystem mit HR praktisch saturiert ist. Wir nehmen an, daß sich schon nach 1 min HR in den die wirksame Strahlung absorbierenden Zellen ein der spektralen Energieverteilung unseres HR entsprechendes, dynamisches Gleichgewicht zwischen P_{HR} und P_{DR} eingestellt hat. Dieses Gleichgewicht liegt stark auf der Seite des P_{DR}. Weil nun das Gleichgewicht zwischen P_{HR} und seiner Vorstufe gestört ist, so wird

P_{HR} nachgebildet. Das nachgebildete P_{HR} wird, der Gleichgewichtseinstellung $P_{HR} \rightleftarrows P_{DR}$ entsprechend, ebenfalls zu P_{DR} umgewandelt. Dadurch erhöht sich die Menge an P_{DR} in den Zellen weiter, und der beobachtete Effekt (das Ausmaß der Photomorphose!) steigt. ($L_m \cdot B_m$ ist ja eine Funktion der gebildeten Menge an P_{DR}.)

Anstatt nun dauernd zu bestrahlen, kann man auch nach dem ersten saturierenden „HR-Stoß" (z. B. 1 min HR) die Keimlinge wieder in Dunkelheit bringen und erst nach einiger Zeit wieder mit HR saturierend bestrahlen. Während der Zeit im Dunkeln wird P_{HR} nachgebildet, das durch den zweiten „HR-Stoß" der Gleichgewichtseinstellung entsprechend umgewandelt wird. Gibt man über den Zeitraum von 6 Std verteilt eine gewisse Anzahl solcher saturierenden „HR-Stöße", so kann man leicht feststellen, welchen Effekt man auf diese Weise maximal erzielen kann (Tabelle 1). Wenn nämlich eine Vermehrung der „HR-Stöße" (also eine Verkürzung der Dunkelperioden!) keine meßbare Steigerung des Effekts mehr bewirkt, so ist (wenigstens mit großer Näherung!) der Punkt erreicht, wo die Geschwindigkeit der Nachbildung von P_{HR} nicht mehr meßbar von der Menge des zwischen den einzelnen „HR-Stößen" angehäuften P_{HR} beeinflußt wird (gemeint ist die Menge an P_{HR}, die über die durch das dem HR entsprechende Gleichgewicht des reversiblen HR-DR-Pigmentsystems gegebene Menge an P_{HR} hinausgeht). — Man kann also feststellen — ohne die HER meßbar zu beeinflussen —, wieviel die NER in einem Zeitraum von 6 Std in unserem genau definierten HR-Feld maximal leistet. Dabei ist lediglich vorausgesetzt (wie auch bei den folgenden Experimenten mit DR und bei der folgenden Berechnung der „Korrekturfaktoren"), daß die Nachbildung von P_{HR} im Dauerlicht tatsächlich nicht meßbar von der Nachbildung in Dunkelheit, die nur von einer ausreichenden Zahl von saturierenden „HR-Stößen" unterbrochen ist, verschieden ist. Diese Annahme dürfte unter unseren Bedingungen weitgehend berechtigt sein (vgl. z. B. hierzu Tabelle 3, 3. und 4. Reihe von oben). Die Frage, ob die Geschwindigkeit der Nachbildung von P_{HR} während der von uns verwendeten Versuchsdauer (z. B. 360 min hellrotes Dauerlicht) *konstant* ist, bleibt offen.

Wir ersehen aus Tabelle 1, daß ein hoher Prozentsatz des Totaleffekts von 6 Std HR auf die Wirkung der NER zurückgeführt werden kann; es bleibt nur ein kleiner Rest, den man der HER zuweisen kann.

Denselben Ansatz kann man nun für DR durchführen. Hier erhebt sich die Frage, ob über einen Zeitraum von 360 min hinweg das DR nicht doch einen gewissen, sicherlich kleinen „HR-Effekt" ausübt, obgleich eine Bestrahlung mit 1 oder 4 min (vgl. Abb. 2, untere Kurve) keine signifikante Abweichung von der Dunkelkontrolle bewirkt. Tatsächlich läßt sich, wie aus Tabelle 2 hervorgeht, zeigen, daß ein kleiner

Tabelle 1

Aufteilung von 16 min HR über einen Zeitraum von 6 Std. (Aus Abb. 2 geht hervor, daß das dem hier verwendeten HR entsprechende Gleichgewicht des Reversiblen HR-DR-Pigmentsystems nach 2 min HR praktisch eingestellt sein dürfte.) $L_m \cdot B_m = 805$ wird als der Wert betrachtet, der mit Hilfe der NER innerhalb von 6 Std in unserem HR-Feld maximal erreicht werden kann. (HR = Hellrot, D = Dunkel, die Zahlen im Bestrahlungsprogramm bedeuten Minuten.)

Bestrahlungsprogramm	$L_m \cdot B_m$
16 HR—344 D	726,7
4 HR—116 D—4 HR—116 D—4 HR—116 D—4 HR	810,6
4 HR—56 D—2 HR—58 D—2 HR—58 D—2 HR—58 D—2 HR—58 D—2 HR—58 D—2 HR	800,5
360 HR	867,9
5 HR—360 D—5 HR	768,1

Teil des Gesamteffekts von 360 min DR auf die Akkumulation des sehr schwachen „HR-Effekts" des DR zurückgeht. Dies ist der indirekte Beweis dafür, daß das verwendete DR ein dynamisches Gleichgewicht des Reversiblen HR-DR-Pigmentsystems einstellt, das vom Dunkel-

Tabelle 2

Aufteilung von 16 min DR über einen Zeitraum von 6 Std. (Aus Abb. 2 und 3 geht hervor, daß das dem hier verwendeten DR entsprechende Gleichgewicht des Reversiblen HR-DR-Pigmentsystems nach 2 min DR praktisch eingestellt sein dürfte.) $L_m \cdot B_m = 656$ wird als der Wert betrachtet, der mit Hilfe der NER innerhalb von 6 Std in unserem DR-Feld maximal erreicht werden kann. (DR = Dunkelrot, HR = Hellrot, D = Dunkel, die Zahlen im Bestrahlungsprogramm bedeuten Minuten.)

Bestrahlungsprogramm	$L_m \cdot B_m$
16 DR—344 D	605,5
4 DR—116 D—4 DR—116 D—4 DR—116 D—4 DR	659,0
4 DR—56 D—2 DR—58 D—2 DR—58 D—2 DR—58 D—2 DR—58 D—2 DR—58 D—2 DR	652,5
360 DR	842,9
5 HR—10 DR—105 D—4 DR—116 D—4 DR—112 D—4 DR—5 HR	764,6

gleichgewicht etwas verschieden ist. Dieses der spektralen Energieverteilung unseres DR entsprechende Gleichgewicht des Reversiblen HR-DR-Pigmentsystems liegt etwas weniger extrem auf der Seite des P_{HR} als das Dunkelgleichgewicht. Dadurch ist auch in diesem Fall das Gleichgewicht zwischen P_{HR} und seiner Vorstufe ein wenig gestört: Es wird etwas P_{HR} nachgebildet. Bestrahlt man nun mit DR fortgesetzt oder mit saturierenden „DR-Stößen", so kann man den sehr schwachen „HR-Effekt" des DR in einem bestimmten Ausmaß ähnlich akkumulieren wie den HR-Effekt des HR. — Der größte Teil des Total-

effekts von 360 min DR geht offenbar auf ein anderes Reaktionssystem zurück, eben auf die HER (Tabelle 2).

Im übernächsten Abschnitt wird der Versuch unternommen, ein Wirkungsspektrum der HER auszuarbeiten, das besser als die in den vorangegangenen Arbeiten veröffentlichten Spektren für die Einflüsse der NER korrigiert ist. Die in diesem Abschnitt gefundenen Werte für die maximale Leistung der NER im HR- bzw. DR-Standard-Feld während eines Zeitraums von 360 min spielen dabei eine wichtige Rolle.

c) Die Intensitätsabhängigkeit der Hochenergiereaktion. Um die HER nachzuweisen, muß man größere Energiemengen der wirksamen Strahlung verabreichen. Deshalb ist es notwendig, wenn man z. B. 6 Std täglich bestrahlt, während dieser Zeit eine erhebliche Strahlungsintensität zu verwenden. Um wenigstens einen gewissen Überblick über die Verhältnisse zu erhalten, wird folgendes Bestrahlungsprogramm durchgeführt: Es wird 24, 48 und 72 Std nach Aussaat je 6 Std im Weißlichtfeld (Leuchtstoffröhren, 2 HNT, 1 HNW, 3000 Lux) mit verschiedenen Intensitäten bestrahlt. Das „Weißlicht" enthält einen hohen Anteil an HR und sehr wenig DR. Die Intensitätsabstufung erfolgt mit geeichten Neutralgläsern (Schott und Gen., Mainz). Um die NER während dieser 6 Std bei allen Intensitäten gleich zu beeinflussen, wird allen Gefäßen während dieser 6 Std 4 · 5 min die volle Intensität gegeben (in Analogie zu dem Bestrahlungsprogramm in Tabelle 1, 2. Reihe von oben). Man kann der Abb. 4 entnehmen, daß die HER während dieser 6 Std nur nachgewiesen werden kann, wenn mit einer relativ hohen Intensität bestrahlt wird: Die HER tritt nur bei der höchsten der angewendeten Intensitäten (3000 Lux) in Erscheinung. (Man muß allerdings beachten, daß dem hier verwendeten „Weißlicht" das bei der HER besonders wirksame DR praktisch fehlt.)

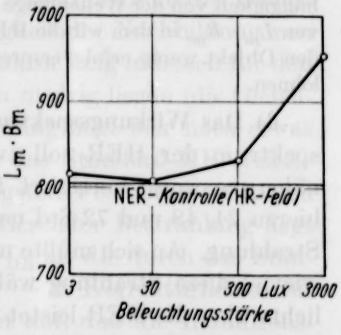


Abb. 4. Die Abhängigkeit der Hochenergiereaktion von der Intensität des eingestrahlten Weißlichts (Leuchtstoffröhren, 2 HNT, 1 HNW). Es wurde 24, 48 und 72 Std nach Aussaat je 6 Std bestrahlt. Während der 6 Std erhielten alle Gefäße 4 · 5 min die volle Intensität (3000 Lux). Unter NER-Kontrolle verstehen wir den maximalen Wert von $L_m \cdot B_m$, den man mit Hilfe der NER in unserem HR-Feld während 6 Std erzielen kann, vgl. Tabelle 1

Für die Ausarbeitung des Wirkungsspektrums werden wir also monochromatische Strahlung von relativ hoher Intensität benötigen. Diese wird in einer neuartigen Interferenzfilter-Monochromatoranlage erzeugt (Mohr und Schoser 1959). Man sieht schon aus dem bisher Dargestellten, daß schon bei täglich 6 Std Bestrahlung der Einfluß der NER auf das Blattwachstum sehr stark ist. Es läßt sich mit der NER in unserem HR-Feld in dieser Zeit ein $L_m \cdot B_m = 800$ erreichen. Da wir wegen der Krümmungen der Keimblätter ein $L_m \cdot B_m = 1100$ nicht über-

schreiten wollen, so bleibt für das Studium des Wirkungsspektrums der HER nur ein relativ schmaler Bereich (etwa $\Delta L_m \cdot B_m = 1100—800$) übrig. — Wir müssen also für unsere monochromatischen Bestrahlungen eine Intensität wählen, bei der der höchste Punkt des gemessenen Wirkungsspektrums zwar im Bereich vom $L_m \cdot B_m = 1050$ bis 1100 liegt, den Wert 1100 jedoch nicht übersteigt. Wir geben ein Wirkungsspektrum der HER an, in dem der Effekt einer konstanten Zahl von Quanten (eingestrahlt während 6 Std täglich) in Abhängigkeit von der Wellenlänge aufgetragen ist. Die weitere Ausarbeitung zu einem Wirkungsspektrum, in dem wir die Zahl der für einen bestimmten Effekt benötigten Quanten in Abhängigkeit von der Wellenlänge auftragen könnten, ist wegen des schmalen Bereichs von $L_m \cdot B_m$, in dem wir die HER nur untersuchen können, bei dem hier vorliegenden Objekt wenig erfolgversprechend. Der große Aufwand würde sich wohl kaum lohnen.

d) Das Wirkungsspektrum der Hochenergiereaktion. Das Wirkungsspektrum der HER soll zwischen 412 und 800 mμ bestimmt werden, näherungsweise korrigiert für den Einfluß der NER. Wir bestrahlen hierzu 24, 48 und 72 Std nach Aussaat je 6 Std mit monochromatischer Strahlung. An sich müßte man für jede einzelne Wellenlänge bestimmen, wieviel diese Strahlung während der 6 Std monochromatischen Dauerlichts über die NER leistet. Dies würde, wollte man statistisch brauchbare Ergebnisse erzielen, einen überaus großen Arbeitsaufwand erfordern. Wir versuchen deshalb, mit Hilfe unserer Standard-HR- bzw. -DR-Felder, näherungsweise „Korrekturfaktoren" für größere Bereiche zu bestimmen. — Die Bestrahlungsprogramme der einzelnen Tage sind gleich. Als günstiges Bestrahlungsprogramm erwies sich folgendes: 5 min HR-Feld — 360 min monochromatische Strahlung — 5 min HR-Feld. Die 1. Bestrahlung mit HR führt dazu, daß zu Beginn der monochromatischen Bestrahlung *alle* Keimlinge mit HR einheitlich saturiert sind (dies ist z. B. für die möglichst genaue Gewinnung der „Korrekturfaktoren" von großer Bedeutung). Die 2. Bestrahlung mit HR dient dazu, nochmals alle Keimlinge am Ende der Bestrahlungszeit einheitlich mit HR zu saturieren und sie somit wieder hinsichtlich der NER in einen einheitlichen Zustand zu versetzen. Aus Tabelle 1 entnehmen wir, daß das Bestrahlungsprogramm 5 min HR — 360 min Dunkelheit — 5 min HR bereits ein $L_m \cdot B_m = 768$ liefert. Es würde jedoch nur zu einer sehr ungenauen Korrektur führen, wenn man diesen Wert von dem Totalresultat des Bestrahlungsprogramms 5 min HR — 360 min monochromatische Strahlung — 5 min HR abziehen würde. Wir müssen genauer differenzieren. Zu diesem Zweck teilen wir den untersuchten Wellenlängenbereich zwischen 400 und 800 mμ auf Grund des Wirkungsspektrums des Reversiblen HR-DR-Reaktionssystems (vgl. z. B. WITHROW u. Mitarb. 1957) in 3 Bezirke ein: „Blaubereich" (400 bis 560 mμ), „HR-Bereich" (560—700 mμ), „DR-Bereich" (700—800 mμ). Wir wollen versuchen, wenigstens für diese drei großen Bereiche näherungsweise „Korrekturfaktoren" zu bestimmen. Der „Korrekturfaktor"

soll mit größtmöglicher Annäherung jenen Effekt angeben, der während der 6 Std Bestrahlung (*einschließlich* der Vor- und Nachbestrahlung mit HR) von der NER hervorgebracht wird. Als „Korrekturfaktoren" der angegebenen 3 Bezirke haben wir folgende Werte bestimmt: 1. Korrekturfaktor für den HR-Bereich: Wir setzen hier den maximalen Wert ein, der mit Hilfe der NER im Standard-HR-Feld während 6 Std zu erreichen ist, also $L_m \cdot B_m = 805$ (vgl. Tabelle 1). Die Annahme scheint berechtigt, daß unter den Bedingungen dieser Experimente (6 Std Dauerlicht) im ganzen HR-Bereich die Geschwindigkeit der Nachbildung von P_{HR} einigermaßen gleich ist. Der Korrekturfaktor mag indessen für den kürzer welligen Teil des HR-Bereichs etwas zu niedrig liegen (die Gleichgewichtseinstellung bei saturierender Bestrahlung liegt hier noch etwas stärker auf der Seite von P_{DR} als die durch das Standard-HR erzielte Gleichgewichtseinstellung), für die langwelligsten Positionen etwas zu hoch (die Gleichgewichtseinstellung bei saturierender Bestrahlung liegt hier etwas weniger stark auf der Seite von P_{DR} als die durch das Standard-HR erzielte Gleichgewichtseinstellung). — 2. Korrekturfaktor für den DR-Bereich: Hier tritt die Schwierigkeit auf, daß die Induktionswirkung der ersten 5 min HR des Bestrahlungsprogramms durch die nachfolgende DR-Bestrahlung bis zu der Gleichgewichtseinstellung reversibilisiert wird, die durch die Wellenlänge des eingestrahlten DR gegeben ist. Während der 6 Std Dauerlicht jedoch kann das DR, wenn auch nur sehr schwach, einen gewissen Effekt im Sinne von HR ausüben. Beide Momente müssen berücksichtigt werden. Wir glauben, daß der Korrekturfaktor für den DR-Bereich näherungsweise durch das Resultat des Bestrahlungsprogramms in der untersten Reihe von Tabelle 2 gegeben ist: $L_m \cdot B_m = 764{,}6$. (Statt der 10 min DR nach den ersten 5 min HR hätten wir auch nur 4 min DR geben können!). Dieser Korrekturfaktor ist vielleicht für die kurzwelligste Position im DR-Bereich etwas zu niedrig (der „HR-Effekt" dieser Wellenlänge ist während der 6 Std wohl etwas höher als der „HR-Effekt" unseres Standard-DR), für die länger welligen Positionen vielleicht etwas zu hoch (ihr „HR-Effekt" während der 6 Std ist wohl noch geringer als der unseres Standard-DR). — 3. Korrekturfaktor für den Blaubereich: Ein hinsichtlich der Intensität und der spektralen Reinheit befriedigendes Standard-Feld für Blau haben wir noch nicht entwickelt. Wir müssen deshalb versuchen, einen möglichst adäquaten Korrekturfaktor für diesen Bereich mit Hilfe der sonst verfügbaren Daten zu definieren. Wir dürfen annehmen (vgl. z. B. WITHROW u. Mitarb. 1957), daß Strahlung aus dem Blaubereich über die NER nur geringe Effekte hervorbringt. Vor allem scheint ein „Reversibilisierungseffekt" (also eine „DR-Wirkung") weitgehend zu fehlen. Eine schwache „HR-Wirkung" scheint jedoch bei manchen Wellenlängen dieses Bereichs vorhanden zu sein. Ferner

müssen wir beachten, daß unsere Einfach-Interferenzfilter, die wir bei unseren Experimenten wegen der hohen, benötigten Intensität verwendet haben, geringe Quantitäten länger welliger „Reststrahlung" durchlassen, die zu dem „HR-Bereich" gehört. Der Korrekturfaktor dürfte also höher liegen als der Wert, der durch das Bestrahlungsprogramm 5 min HR — 360 min Dunkel — 5 min HR induziert wird. Er ist aber wahrscheinlich niedriger als der maximale Wert, der über die NER im HR-Feld während der 6 Std erzielt werden kann. Wir nehmen das arithmetische Mittel dieser beiden Werte als Korrekturfaktor für den Blaubereich, als $L_m \cdot B_m = 786{,}5$.

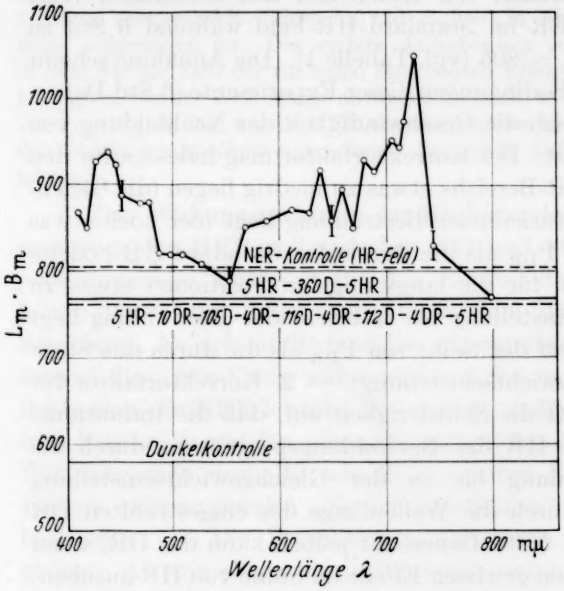


Abb. 5. $L_m \cdot B_m$ (= Index der mittleren Blattfläche) in Abhängigkeit von der Wellenlänge. Bestrahlung: 24, 48 und 72 Std nach Aussaat je 360 min mit monochromatischer Strahlung gleicher Intensität in Quanten/cm² · sec (Intensität in Energie/cm² · sec bei λ = 412 mμ: 1070 erg/cm² · sec). Unmittelbar vor und nach dieser Bestrahlung wird im HR-Feld je 5 min vor- bzw. nachbelichtet. Es sind auch die Resultate einiger Bestrahlungsprogramme eingetragen, die für die „Korrekturfaktoren" (vgl. Text) benötigt werden. Unter „NER-Kontrolle" verstehen wir den maximalen Wert von $L_m \cdot B_m$, den man mit Hilfe der NER in unserem HR-Feld während 6 Std erzielen kann, vgl. Tabelle 1. (HR = Hellrot, DR = Dunkelrot, NER = Niederenergiereaktion, D = Dunkel, die Zahlen in den Bestrahlungsprogrammen bedeuten Minuten.) Für einige repräsentative Meßpunkte sind die einfachen mittleren Fehler von $L_m \cdot B_m$ eingetragen, berechnet für n = 40 Keimlinge

In Abb. 5 sind die gemessenen Totaleffekte in Abhängigkeit von der Wellenlänge eingetragen. Gleichzeitig sind auch die Werte eingetragen, die durch die Bestrahlungsprogramme erzielt werden, die wir für die Korrekturfaktoren brauchen. Das mit Hilfe der Korrekturfaktoren wenigstens näherungsweise für den Einfluß der NER korrigierte Wirkungsspektrum der HER zeigt Abb. 6. Das Wirkungsspektrum besitzt je einen starken Gipfel im Dunkelrot bzw. im Blau. Um 640 mμ könnte ein schwacher Gipfel sein. (Die Genauigkeit des Wirkungsspektrums leidet trotz der relativ geringen Variabilität des Materials darunter, daß bei der Untersuchung der HER nur mit einem relativ kleinen Teil des Gesamtwerts von $L_m \cdot B_m$ gearbeitet werden kann. Bei einigen Meßpunkten der Abb. 5 sind die einfachen

mittleren Fehler von $L_m \cdot B_m$ eingetragen, vgl. hierzu den methodischen Teil.)

Ein Vergleich mit den früher ausgearbeiteten, ungenügend korrigierten Wirkungsspektren der Anthocyanbildung und der Etiolementverhinderung des Hypokotyls bei Keimlingen von *Sinapis alba* (MOHR 1957) sowie ein Vergleich mit den Angaben in der Arbeit über Haarbildung am Hypokotyl dieser Keimlinge (MOHR 1959a) läßt den Schluß zu, daß ein und dasselbe Hochenergie-Reaktionssystem in allen Fällen wirksam ist. Wegen der beiden dominierenden Gipfel nennen wir das Reaktionssystem (wenigstens vorläufig) „Blau-Dunkelrot-Reaktionssystem", das diesem Reaktionssystem zugrunde liegende Pigmentsystem nennen wir (wenigstens vorläufig) „Blau-Dunkelrot-Pigmentsystem".

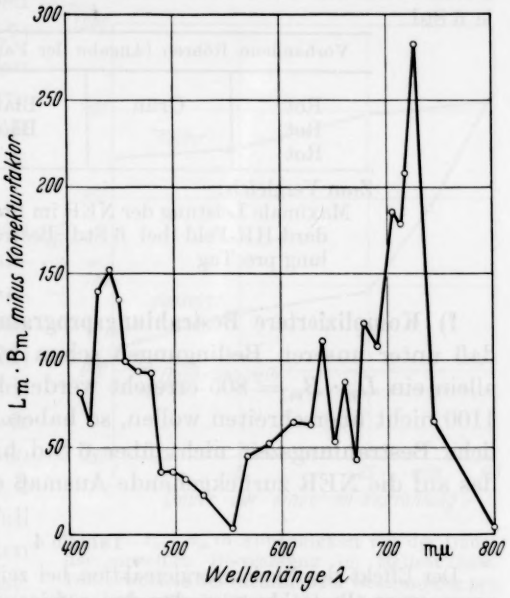


Abb. 6. Das Wirkungsspektrum der „Hochenergiereaktion", näherungsweise korrigiert für den Einfluß der „Niederenergiereaktion". Verwendet sind die Angaben der Abb. 5. Die „Korrekturfaktoren" sind im Text erläutert

e) Ein zusätzliches Experiment zum Wirkungsspektrum der Hochenergiereaktion. Wir ersehen aus dem Wirkungsspektrum der HER, daß der grüne Spektralbereich keine bzw. nur sehr geringe Wirkung hat. Die Frage ist nun, ob hier tatsächlich keine Wirkung vorliegt oder ob dieser Bereich einen antagonistischen Effekt gegenüber den fördernden Spektralbereichen ausübt, wenn grüne Strahlung zusammen mit blauer Strahlung oder länger welliger Strahlung gegeben wird. Man könnte also, z. B. auf Grund der Angaben von KANDELER (1958), annehmen, bei der HER arbeite das Grün der Blau-Dunkelrotwirkung entgegen. Diese Annahme wird in einem besonderen Lichtfeld, das mit je einer „roten", einer „grünen" und einer „blauen" Leuchtstoffröhre hergestellt wurde (vgl. MOHR und SCHOSER 1959) getestet (Tabelle 3). Aus dieser Tabelle geht hervor, daß eine antagonistische Wirkung des Grün gegenüber der gleichzeitig gegebenen kürzer bzw. länger welligen Strahlung nicht besteht, andernfalls würde wohl der Effekt nach Entfernung der „grünen" Röhre ansteigen. Der HER-Effekt geht offenbar ausschließlich auf das Blaulicht zurück.

Tabelle 3

Eine experimentelle Anordnung zur Prüfung der Frage, ob hinsichtlich der HER der grüne Spektralbereich tatsächlich praktisch wirkungslos ist. (Zur Erzeugung der „roten", „grünen" und „blauen" Strahlung werden entsprechende Leuchtstoffröhren [Philips] verwendet, je eine von jeder Farbe.) Brennen alle 3 Röhren, so zeigt im resultierenden Lichtfeld ein Beleuchtungsmesser (Lange, Berlin) etwa 2000 Lux an (die Angabe ist natürlich nur für Reproduktionszwecke mit demselben Röhrentyp brauchbar). Es wird geprüft, wie sich die Wegnahme von ein oder 2 Röhren auf den Effekt auswirkt. Bestrahlung: 24, 48 und 72 Std nach Aussaat je 6 Std.

Vorhandene Röhren (Angabe der Farbe)			$L_m \cdot B_m$
Rot	Grün	Blau	852,4
Rot	—	Blau	856,0
Rot	—	—	808,0
Zum Vergleich: Maximale Leistung der NER im Standard-HR-Feld bei 6 Std Bestrahlung pro Tag			805

f) Kompliziertere Bestrahlungsprogramme. α) Wir haben gesehen, daß unter unseren Bedingungen schon während 6 Std über die NER allein ein $L_m \cdot B_m = 805$ erreicht werden kann. Da wir ein $L_m \cdot B_m = 1100$ nicht überschreiten wollen, so haben wir darauf geachtet, die tägliche Bestrahlungszeit nicht über 6 Std hinaus auszudehnen, da sonst das auf die NER zurückgehende Ausmaß der Gesamtreaktion ebenfalls

Tabelle 4

Der Effekt der Niederenergiereaktion bei zeitlich ausgedehnten Bestrahlungsprogrammen (Bestrahlung an den drei aufeinanderfolgenden Tagen, die täglichen Bestrahlungsprogramme sind gleich). ΔD = Dunkelperiode in Stunden zwischen den einzelnen HR- bzw. DR-Stößen, HR = Hellrot, DR = Dunkelrot.

Bestrahlungsprogramm	$L_m \cdot B_m$
4 · 5 min HR (ΔD = 3)	858,4
4 · 5 min HR (ΔD = 5)	966,7
Zur Kontrolle:	
4 · 4 min HR (ΔD = 2)	810,6
4 · 5 min DR (ΔD = 3)	669,7
4 · 5 min DR (ΔD = 5)	683,0

weiter steigen würde und der für die Messung der HER verbleibende Bereich sich weiter verschmälern würde. Es ist jedoch von großem Interesse zu erfahren, wieviel die NER bei einem zeitlich ausgedehnteren Bestrahlungsprogramm leisten kann. Um davon eine gewisse Vorstellung zu erhalten, verteilen wir vier kurze „HR-Stöße" über einen Zeitraum von 9 bzw. 15 Std täglich (also mit Dunkelperioden von 3 bzw. 5 Std zwischen den „HR-Stößen"). Man sieht (Tabelle 4), daß man

über die NER mit einigen kurzen „HR-Stößen" hohe Werte von $L_m \cdot B_m$ erreichen kann, falls man zwischen den einzelnen saturierenden „HR-Stößen" genügend Zeit für die Nachbildung von P_{HR} läßt. ($L_m \cdot B_m$ = 966,7 ist natürlich nicht der höchste Wert, den man so erzielen kann. Durch eine entsprechend günstigere Verteilung von insgesamt 20 min HR über 15 oder 24 Std hinweg ließen sich sicherlich noch erheblich höhere Werte erreichen.) — Für uns ist hier wichtig, daß es offenbar möglich ist, ein und denselben Wert von $L_m \cdot B_m$ (z. B. 966,7) über die NER *allein* zu erzielen wie auch über eine kombinierte Wirkung von NER und HER (vgl. z. B. den Wert bei λ = 719 mμ in Abb. 5).

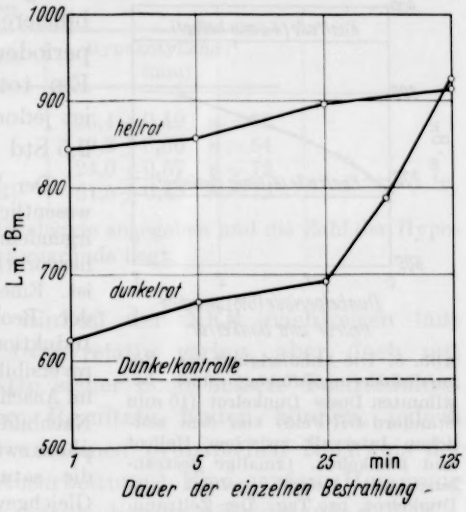


Abb. 7. $L_m \cdot B_m$ in Abhängigkeit von der Dauer der einzelnen Bestrahlung im Hellrot bzw. Dunkelrotfeld bei mehrmaliger Bestrahlung pro Tag. (Pro Tag wird 4mal bestrahlt. Die Dauer der einzelnen Bestrahlung ist auf der Abszisse abgetragen. Die Zeitspanne vom Beginn einer Bestrahlung bis zum Beginn der nächsten Bestrahlung beträgt 3 Std)

β) Aus Abb. 2 entnehmen wir, daß bei einmaliger Bestrahlung pro Tag und bei den angewandten Bestrahlungszeiten das HR (HR-Standard-Feld) dem DR (DR-Standard-Feld) überlegen ist. Auch wenn wir mehrmals täglich bestrahlen, so finden wir (vgl. die Tabellen 1, 2 und 4), daß auch in diesem Fall bei kurzen Bestrahlungszeiten das HR dem DR überlegen ist. Auf Grund des Wirkungsspektrums der HER müßte es sich jedoch bei einer mehrmaligen Bestrahlung pro Tag besonders eindrucksvoll zeigen lassen, daß bei längerer Dauer der einzelnen Bestrahlung die Kurve für das DR viel steiler verläuft als die Kurve für das HR, da das DR um so stärker dominiert, je mehr die HER in den Vordergrund tritt. Es muß schließlich wohl zu einem Schnitt der beiden Kurven kommen. Abb. 7 zeigt das Resultat eines entsprechenden Bestrahlungsprogramms. Es stimmt mit den Erwartungen überein.

γ) Es ist für andere Objekte bekannt, vgl. z. B. die Zusammenfassung bei Mohr (1959b), daß das Ausmaß der Reversibilisierung einer HR-Induktion durch nachfolgendes DR abnimmt, wenn eine längere Dunkelperiode zwischen HR und DR eingeschoben wird. Dieses Phänomen soll nun auch für *Sinapis alba* nachgewiesen werden. — Da eine *ein*malige saturierende Bestrahlung mit HR pro Tag (vgl. Abb. 2) nur einen relativ geringen Induktionseffekt hat und deshalb nur ein relativ

schmaler Bereich von $\Delta L_m \cdot B_m$ bleibt, in dem man die Abnahme des Reversibilisierungseffekts messen könnte, so wählen wir ein passenderes Bestrahlungsprogramm, das einen breiteren Bereich liefert. Wir verabreichen pro Tag 4 · 5 min HR. Der Zeitraum zwischen dem Beginn der einzelnen HR-Bestrahlungen beträgt 3 Std. Nach jedem „HR-Stoß" werden 10 min DR gegeben. Der Zeitraum zwischen der HR-Bestrahlung und der DR-Bestrahlung wird verändert. Abb. 8 zeigt, daß man um so weniger von der HR-Induktion reversibilisieren kann, je länger die Dunkelperioden zwischen HR und DR sind. Ein totaler Verlust der Reversibilität ist jedoch bei einer Dunkelperiode von 2,5 Std noch nicht erreicht.

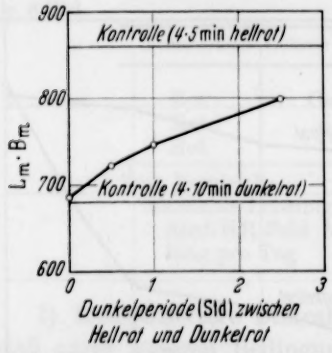


Abb. 8. Die Abhängigkeit des „Reversibilisierungseffekts" einer bestimmten Dosis Dunkelrot (10 min Standard-DR-Feld) von dem zeitlichen Intervall zwischen Hellrot und Dunkelrot. (4malige Bestrahlung mit Hellrot, gefolgt von Dunkelrot, pro Tag. Der Zeitraum zwischen dem Beginn der einzelnen Hellrot-Bestrahlungen beträgt 3 Std. Auf der Abszisse ist die Dunkelperiode aufgetragen, die zwischen Hellrot und Dunkelrot eingeschoben wird)

Der Verlust an Reversibilität dürfte im wesentlichen davon herrühren, daß P_{DR} in irgendeiner Weise eine Stoffwechseländerung hervorbringt, die dann nicht mehr reversibel ist. Eine gewisse Bedeutung bei der Erklärung der Beobachtung, daß eine erfolgte HR-Induktion nach einiger Zeit nicht mehr so weit reversibilisiert werden kann wie unmittelbar im Anschluß an das HR, mag indessen auch der Nachbildung von P_{HR} während der Dunkelphase zwischen HR und DR zukommen. Durch die saturierende HR-Bestrahlung wird ein Gleichgewicht des Reversiblen HR-DR-Pigmentsystems eingestellt, das stark auf der Seite von P_{DR} liegt. In der nachfolgenden Dunkelperiode wird nun P_{HR} nachgebildet. Stellt man nun mit DR ein der spektralen Energieverteilung des DR entsprechendes Gleichgewicht ein, so wird die absolute Menge an nicht umgewandeltem P_{DR} größer sein als in dem Fall, wo das DR sofort im Anschluß an das HR gegeben wird. (Die Frage ist experimentell zugänglich: Man muß für die saturierende Reversibilisierung „reines" DR verwenden, d. h. solches, das von P_{HR} nicht absorbiert wird.)

g) Ein Nachtrag zu der Arbeit über **die Hemmung des Hypokotylwachstums der jungen Keimlinge von *Sinapis alba* durch Licht** (MOHR 1957). In jener Arbeit konnte der Nachweis, daß neben der HER auch das Reversible HR-DR-Reaktionssystem das Längenwachstum der Hypokotyle beeinflußt, nicht geführt werden. Wie wir jetzt wissen, waren die damals verwendeten Bestrahlungsprogramme zu einfach und daher nicht geeignet, den Einfluß der NER auf das Längenwachstum des Hypokotyls mit Sicherheit nachzuweisen. Verschiedene Befunde (z. B. die hohe Streulichtwirkung in Abb. 5, MOHR 1957) deuteten jedoch auf die NER hin. — Nunmehr haben wir den Einfluß von HR und DR auf das Längenwachstum der Hypokotyle noch einmal geprüft

Tabelle 5

Der Einfluß von Hellrot und Dunkelrot auf die Endlänge der Hypokotyle von *Sinapis alba*-Keimlingen 72 Std nach Aussaat (25° C). Es wird während der 1. Hälfte des 2. und 3. Tages nach der Aussaat mit gleichem Bestrahlungsprogramm bestrahlt. Die 5 Bestrahlungen pro Tag sind durch Dunkelperioden von 3 Std Dauer (vom Beginn einer Bestrahlung bis zum Beginn der nächsten gerechnet!) getrennt. Das bei diesen Experimenten über Hypokotylwachstum verwendete DR wurde mit Hilfe von Schottschem Farbglas (vgl. Mohr und Schoser 1959) hergestellt. HR = Hellrot, DR = Dunkelrot, die Zahlen im Bestrahlungsprogramm bedeuten Minuten.

Bestrahlungsprogramm	Hypokotyllänge[1] (mm)
Dunkelkontrolle	$25{,}4 \pm 0{,}49 \quad n = 72$
$5 \cdot 5$ HR	$19{,}3 \pm 0{,}56 \quad n = 54$
$5 \cdot 10$ DR	$24{,}0 \pm 0{,}57 \quad n = 72$
$5 \cdot (5\,\text{HR} + 10\,\text{DR})$	$21{,}5 \pm 0{,}45 \quad n = 72$

[1] Es ist der mittlere Fehler des Mittelwerts angegeben und die Zahl der Hypokotyle, deren Messung dem Mittelwert zugrunde liegt.

und festgestellt, daß sich ein Einfluß der NER nachweisen läßt (Tabelle 5). Der Einfluß ist zwar relativ gering, aber doch mit Sicherheit vorhanden. (Man hätte sicher noch bessere Bestrahlungsprogramme und eindrucksvollere Resultate finden können, jedoch geht es uns hier zunächst nur um einen prinzipiellen Nachweis der NER, nicht um eine genauere Ausarbeitung.) Eine gewisse Hemmung des Längenwachstums des Hypokotyls beruht also darauf, daß P_{DR} gebildet wird. Es ist damit prinzipiell gezeigt, daß auch an der Steuerung des Längenwachstums des Hypokotyls der Keimlinge von *Sinapis alba* sowohl die HER wie auch die NER beteiligt sind.

4. Diskussion

a) Wir sehen in der vorliegenden Arbeit, daß das Blattwachstum nicht nur über das Reversible Hellrot-Dunkelrot-Reaktionssystem beeinflußt werden kann [wie es für Bohnenblätter in den letzten Jahren von Downs (1955) und Liverman u. Mitarb. (1955) gezeigt wurde], sondern auch über ein anderes Reaktionssystem, das wir wegen der typischen Zweigipfeligkeit seines Wirkungsspektrums „Blau-Dunkelrot-Reaktionssystem" nennen. Es handelt sich hierbei um eine „Hochenergiereaktion"(= HER), d. h. das Reaktionssystem kann erst nachgewiesen werden (an Hand der Photomorphose!), wenn man eine relativ große Energiemenge des wirksamen Spektralbereichs einstrahlt. Wir haben in dieser Arbeit versucht, das Reversible HR-DR-Reaktionssystem von dem Blau-Dunkelrot-Reaktionssystem physiologisch durch entsprechende Bestrahlungsprogramme weitgehend zu trennen. Dabei haben wir die in der vorangegangenen Arbeit (Mohr 1959a) entwickelten

Vorstellungen über die Nachbildung von P_{HR} aus seiner Vorstufe verwertet. Die weitgehende Trennung der beiden Systeme ermöglichte die Aufstellung eines einigermaßen korrekten Wirkungsspektrums der HER. Es zeigte sich, daß das Wirkungsspektrum der HER (Effekt pro konstante Zahl von Quanten in Abhängigkeit von der Wellenlänge) einen steilen Gipfel im dunkelroten Spektralbereich hat und einen niedrigeren Gipfel im Blau.

b) Es sind bisher von uns vier verschiedene Photomorphosen der jungen Dunkelkeimlinge von *Sinapis alba* L. untersucht worden (Anthocyanbildung, Hemmung des Längenwachstums des Hypokotyls, Bildung von Haaren aus Zellen der Epidermis des Hypokotyls, Flächenwachstum der Keimblätter). Wir haben zeigen können (MOHR 1957, 1959a und die vorliegende Arbeit), daß *alle* diese Photomorphosen auf dieselben 2 Photoreaktionssysteme, nämlich auf das Reversible HR-DR-Reaktionssystem (NER) und auf das Blau-Dunkelrot-Reaktionssystem (HER) zurückgehen. Dies ist vielleicht das wichtigste Ergebnis dieser Serie von Arbeiten.

Somit zeigt sich eine fast unerwartete Einheitlichkeit in der zunächst so verwirrend erscheinenden Vielfalt der Reaktionen, die man an einem Dunkelkeimling beobachten kann, nachdem man ihn bestrahlt hat. Nach unserem derzeitigen Wissen scheint es so zu sein, daß im wesentlichen die ganze Photomorphogenese der jungen Keimlinge von *Sinapis alba* auf der Strahlungsabsorption in 2 Pigmentsystemen beruht (Reversibles HR-DR-Pigmentsystem und Blau-Dunkelrot-Pigmentsystem). Unter natürlichen Bedingungen werden die registrierbaren Photomorphosen stets mehr oder weniger auf beide Reaktionssysteme zurückgehen, im Experiment gelingt es — durch Anwendung relativ komplizierter Bestrahlungsprogramme —, die beiden Systeme weitgehend zu trennen. (Es sei betont, daß wir hier nur Photomorphosen behandeln, die junge Dunkelkeimlinge auf Grund einer relativ kurzen Bestrahlung mit genau definiertem farbigem bzw. monochromatischem Licht zeigen. Die photomorphogenetischen Reaktionen, die bei bestimmten Bestrahlungsprogrammen bei älteren, in „Weißlicht" gewachsenen, grünen Pflanzen auftreten, gehören *nicht* unmittelbar in den Kreis der hier zu behandelnden Phänomene, vgl. hierzu z. B. WASSINK und STOLWIJK 1956, VAN DER VEEN und MEIJER 1958 und MEIJER 1958a, b.)

c) Beim gegenwärtigen Stand unseres Wissens können wir lediglich versuchen, mit Hilfe der durch komplizierte Bestrahlungsprogramme induzierten Photomorphosen auf die Eigenschaften der die Strahlung absorbierenden Pigmentsysteme und (vielleicht) auf die durch die Strahlungsenergie ermöglichten photochemischen Reaktionen zu schließen (vgl. die Einleitung). Wir können jedoch keine begründeten Aussagen über die chemischen Reaktionen bzw. über die Art der Umsteuerungen

im Stoffwechsel der Zellen machen, welche auf die photochemische Reaktion folgen müssen, wenn es zu einer Photomorphose kommen soll. Man kann nur Vermutungen äußern.

Es ist anzunehmen, daß Veränderungen der Aktivität gewisser Enzyme eine wichtige Rolle zukommt. Veränderungen der Aktivität von Enzymen nach Bestrahlung mit HR bzw. DR sind beobachtet worden (Hillman und Galston 1957 und Gardon und Surrey 1958). — Vielleicht sind auch Befunde, wonach zuweilen die HR-Wirkung durch gewisse Chemikalien, z. B. Kinetin oder Cobalt-Ionen, wenigstens teilweise ersetzt werden kann, für ein kausales Verständnis der Licht-

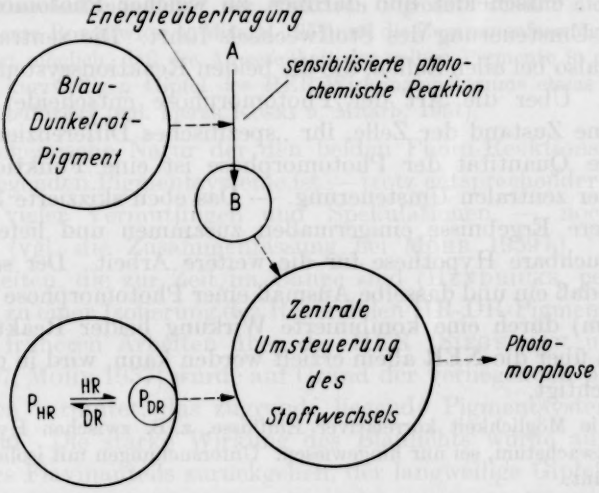


Abb. 9. Ein hypothetisches Schema, das unsere Ergebnisse formal zusammenfaßt (vgl. den Text). Das Ausmaß der Stoffwechsel-Umsteuerung — als Δ bezeichnet — hängt von der Menge an B und P_{DR} ab. Es gilt: $\Delta = f([B], [P_{DR}])$. Für die erfaßbare Quantität der spezifischen Photomorphose — als R bezeichnet — gilt: $R = f(\Delta)$

wirkung von Bedeutung (Miller 1951, 1952, 1956, Scott und Liverman 1956, Hillman 1957, Skinner und Shive 1959). Meist scheinen aber der Lichteffekt und der Effekt der zugeführten Substanz weitgehend additiv zu sein. Nach den Angaben von Miller (1958) dürfte es wahrscheinlich sein, daß das Kinetin mit der HR-DR-Photoreaktion als solcher nichts zu tun hat. — Auch die Wirkung von Gibberellinsäure im Zusammenhang mit HR-DR-Wirkungen ist zu beachten (z. B. Kahn u. Mitarb. 1956, Downs u. Mitarb. 1957, Scott und Liverman 1957, Lockhart 1958, Brian 1958, Skinner und Shive 1959).

Formal lassen sich die von uns gefundenen Zusammenhänge in folgendem Schema befriedigend zusammenfassen (Abb. 9, vgl. auch die Einleitung und Mohr 1959a). Das Gleichgewicht des Reversiblen HR-DR-Pigmentsystems wird durch Bestrahlung mit HR auf die Seite des P_{DR} verschoben. P_{DR} ist die physiologisch „aktive" Substanz. (Der praktisch ausschließlichen Anwesenheit von P_{HR} in der Zelle müssen wir den „Dunkelhabitus" der Pflanze zuordnen!). Die Anwesenheit von P_{DR} in der Zelle führt zu Prozessen, die schließlich eine Umsteuerung des Stoffwechsels an einer zentralen Stelle bewirken. Das Ausmaß dieser

Umsteuerung ist eine Funktion der Menge des gebildeten P_{DR}. — Das Blau-Dunkelrot-Pigmentsystem fungiert als Sensibilisator. Die von ihm absorbierte Strahlungsenergie ermöglicht die photochemische Reaktion $A \rightarrow B$. Die Anwesenheit von B in der Zelle löst Prozesse aus, die schließlich *dieselbe* fundamentale Umsteuerung des Stoffwechsels der Zellen hervorbringen wie die Prozesse, die von P_{DR} ausgehen. Das Ausmaß der Umsteuerung ist eine Funktion der Menge des gebildeten B.

Die Organzugehörigkeit der Zellen, also ihr „spezifisches Differenziertsein", entscheidet nun darüber, zu welcher Photomorphose diese zentrale Umsteuerung des Stoffwechsels führt. Die zentrale Umsteuerung ist also bei allen Zellen, die die beiden Reaktionssysteme enthalten, dieselbe. Über die Art der Photomorphose entscheidet jedoch der allgemeine Zustand der Zelle, ihr „spezifisches Differenziertsein"! Die erfaßbare Quantität der Photomorphose ist eine Funktion des Ausmaßes der zentralen Umsteuerung. — Das eben skizzierte Schema faßt alle unsere Ergebnisse einigermaßen zusammen und liefert vielleicht eine brauchbare Hypothese für die weitere Arbeit. Der sehr wichtige Befund, daß ein und dasselbe Ausmaß einer Photomorphose (z. B. Blattwachstum) durch eine kombinierte Wirkung beider Reaktionssysteme wie auch über die NER allein erzielt werden kann, wird in dem Schema berücksichtigt.

Auf die Möglichkeit korrelativer Einflüsse, z. B. zwischen Hypokotyl- und Keimblattwachstum, sei nur hingewiesen. Untersuchungen mit isolierten Organen sind geplant.

Auch ein anderer, schwieriger Fragenkomplex sei nur kurz erwähnt. Von den Arbeiten mit isolierten Pflanzenteilen (z. B. MILLER 1951, 1952, LIVERMAN und BONNER 1953, LIVERMAN u. Mitarb. 1955, WITHROW u. Mitarb. 1957) wissen wir zwar, daß das Reversible HR-DR-Reaktionssystem in allen wesentlichen, oberirdischen Organen des Keimlings einer höheren Pflanze vorliegt, es ist aber nicht klar, ob *alle* Zellen dieser Organe dieses Reaktionssystem enthalten. (Gänzlich ungeklärt ist auch, in welchen Zellbestandteilen die Pigmente vorkommen.) Dasselbe läßt sich wohl auch über das Blau-Dunkelrot-Reaktionssystem bei *Sinapis alba*-Keimlingen sagen, obgleich hier noch keine Untersuchungen mit isolierten Teilen des Keimlings vorliegen. Mit einiger Sicherheit können wir zwar auf Grund der Arbeiten über die Anthocyanbildung in Epidermiszellen der Keimblätter (MOHR 1957) und auf Grund der Haarbildung aus Epidermiszellen des Hypokotyls (MOHR 1959a) annehmen, daß die Reaktionssysteme in Zellen der Epidermis vorkommen, wir können jedoch nicht ausschließen, daß auch Zellen anderer Gewebe diese Reaktionssysteme enthalten (z. B. Anthocyanbildung in subepidermalen Zellen des Hypokotyls). In diesem Zusammenhang sei auf das Phänomen hingewiesen, daß alle bisher genauer ausgearbeiteten Wirkungsspektren der NER (HR-Wirkung!) (PARKER u. Mitarb. 1946, 1950, BORTHWICK u. Mitarb. 1948, 1951, 1952, 1954, PIRINGER und HEINZE 1954, TOOLE u. Mitarb. 1955, DOWNS 1955, MOHR 1956, WITHROW u. Mitarb. 1957) merkwürdig gut übereinstimmen, obgleich sie z. T. an extrem verschiedenen Objekten (z. B. an Farnsporen oder grünen Blättern) ausgearbeitet wurden und obgleich „Schirmpigmente" (so etwa die Chlorophylle!) bei den einen Objekten (etwa den grünen Blättern) in großen Mengen vorhanden

waren, bei anderen dagegen praktisch nicht. — Die jungen, gelblich gefärbten Keimblätter der verwendeten Dunkelkeimlinge von *Sinapis alba* absorbieren oder streuen praktisch mindestens 96—98% der auf sie fallenden Strahlung über den gesamten Bereich von 400—800 mμ hinweg (Mikrospektralphotometer). Wie wir gesehen haben, läßt sich trotzdem für das Blattwachstum ein Wirkungsspektrum ausarbeiten, das sehr ähnlich ist den Wirkungsspektren für die Anthocyanbildung und für die Haarbildung, wo wir — wohl mit Recht — annehmen, daß die wirksame Absorption in der Epidermis erfolgt. Wir dürfen die Annahme machen, daß die für das Blattwachstum unwirksame Strahlungsabsorption durch „Abschirmpigmente" und besonders die Lichtstreuung sehr groß, verglichen damit die effektive Absorption durch die wirksamen Pigmente sehr klein sind. Ein erheblicher „Selbstbeschattungseffekt" der effektiven Pigmente scheint nicht vorzuliegen (vgl. hierzu Borthwick u. Mitarb. 1951 und die Zusammenfassung bei Mohr 1959b). Es ist möglich, daß die Anwesenheit der gelben Pigmente in den Keimblättern den kurzwelligen Gipfel des HER-Wirkungsspektrums etwas erniedrigt bzw. etwas modifiziert (vgl. hierzu Koski u. Mitarb. 1951).

d) Die chemische Natur der den beiden Photo-Reaktionssystemen zugrunde liegenden Pigmentsysteme ist — trotz entsprechender Arbeiten und trotz vieler Vermutungen und Spekulationen — noch immer unbekannt (vgl. die Zusammenfassung bei Mohr 1959b). Vielleicht führen Arbeiten, die zur Zeit im Gange sind (Hendricks, persönliche Mitteilung) zu einer Isolierung des Reversiblen HR-DR-Pigmentsystems.

In den früheren Arbeiten über die HER (Siegelman und Hendricks 1957, Mohr 1957) wurde auf Grund der vorliegenden physiologischen Daten vermutet, das zugrunde liegende Pigmentsystem sei ein Flavoproteid. Die starke Wirkung des Blaulichts würde auf die Absorption des Flavinanteils zurückgehen, der langwellige Gipfel des Wirkungsspektrums könnte auf die Absorption eines zu diesem Molekülverband gehörigen Schwermetalls, z. B. Cu, zurückgehen (vgl. Siegelman und Hendricks 1957). Man kann natürlich dann nicht voraussetzen, daß die Quantenausbeute im kurzwelligen Spektralbereich dieselbe ist wie im langwelligen. Flavoproteide, die ähnliche Absorptionseigenschaften haben wie das aus dem Wirkungsspektrum der HER erschlossene Pigment, sind in jüngster Zeit bekanntgeworden, z. B. die im oxydierten Zustand grüne Butyryl CoA-Dehydrase aus Lebermitochondrien (Mahler 1954, 1956; vgl. auch Theorell 1958). Neuerdings wird jedoch bezweifelt, daß dieses gefärbte Enzym Cu enthält (Steyn-Parve und Beinert 1957). Die grüne Farbe des Enzyms soll auf der etwas veränderten Absorption des Flavin-Anteils beruhen. — Unter den üblichen pflanzlichen Pigmenten dürfen wir, des langwelligen Gipfels wegen, das der HER zugrunde liegende Pigmentsystem nicht suchen.

Neuerdings vertreten Hendricks und Borthwick (1959) in einer interessanten und umfassenden Hypothese die Ansicht, daß das als Sensibilisator wirksame Pigment der HER identisch ist mit dem Reversiblen HR-DR-Pigmentsystem in einem bestimmten dynamischen Gleichgewichtszustand beider Pigmentformen.

Nach diesen Vorstellungen wird ein Teil der Anregungsenergie des P_{HR} bzw. des P_{DR} nicht für die Umwandlung verwendet, sondern steht für die Auslösung der sensibilisierten, photochemischen Reaktion (Reaktion $A \rightarrow B$ in Abb. 9) zur Verfügung. Für *Sinapis alba*-Keimlinge, wo offenbar der langwellige Gipfel der HER um 725—730 mμ liegt, würde nach dieser Hypothese zu erwarten sein, daß die Umwandlung von P_{DR} nach P_{HR} mit sehr viel geringerer Quantenausbeute verläuft als die von P_{HR} nach P_{DR}. Ein großer Teil der Anregungsenergie des P_{DR} stünde für die Sensibilisatorfunktion zur Verfügung. Das Gleichgewicht des reversiblen HR-DR-Pigmentsystems würde, auch bei Einstrahlung von DR, das von P_{HR} nur wenig absorbiert wird, auf der Seite des P_{DR} liegen. Dies steht nun offensichtlich im Widerspruch zu unseren Befunden, da z. B. die Reversibilisierung der HR-Induktion durch nachfolgendes DR sehr leicht möglich ist, obgleich unser DR auch von dem P_{HR} etwas absorbiert wird. Wir wollen deshalb diese Vorstellungen hier nicht weiter diskutieren. Vielleicht gelingt es den Autoren, die interessante Hypothese den neuen Versuchsergebnissen anzupassen.

e) Anthocyanbildung. Für die Keimlinge von *Sinapis alba* wurde gezeigt, daß auch die lichtabhängige Bildung von Anthocyan von beiden Reaktionssystemen (NER und HER) beherrscht wird (MOHR 1957). — In jüngster Zeit haben SIEGELMAN und HENDRICKS (1957, 1958a) bei Keimlingen von *Brassica rubra* und *Brassica rapa* sowie bei mehreren Apfel-Sorten den Lichteinfluß auf die Anthocyanbildung untersucht. (Bei den Äpfeln wurde in diesem Zusammenhang auch die im Vergleich zur Dunkelheit starke Hemmung der Alkoholbildung durch Licht näher bearbeitet, SIEGELMAN und HENDRICKS 1958b.) — Während diese Autoren nur bei *Brassica rubra* einen Einfluß des Reversiblen HR-DR-Reaktionssystemes (NER) auf die Anthocyanbildung nachweisen konnten, fanden sie in allen Fällen Hochenergie-Wirkungsspektren, die Ähnlichkeit mit dem Wirkungsspektrum der HER bei *Sinapis alba* haben (starker Gipfel im langwelligen Teil des sichtbaren Spektrums, schwächerer Gipfel im Blau). Da bei *Brassica rubra* kein Versuch gemacht wurde, den Anteil der NER am Gesamteffekt abzuschätzen und demgemäß das gemessene Wirkungsspektrum zu korrigieren, so kann das Wirkungsspektrum für *Brassica rubra* nicht genauer mit dem Wirkungsspektrum der Abb. 6 verglichen werden. Dagegen scheint bei den untersuchten Keimlingen von *Brassica rapa* der Fall vorzuliegen, daß die Förderung der Anthocyanbildung durch Licht ausschließlich über das Blau-Dunkelrot-Reaktionssystem geht. Ein Effekt des Rerversiblen HR-DR-Reaktionssystems konnte (unter den gewählten experimentellen Bedingungen!) nicht nachgewiesen werden. Das Wirkungsspektrum der Induktion der Anthocyanbildung bei diesen Keimlingen ist dem Wirkungsspektrum der Abb. 6 sehr ähnlich (starker Gipfel bei $\lambda =$ 725mμ). Auch hier liegt ein weiterer schwächerer Gipfel im Blaubereich ($\lambda <$ 500 mμ). — Auch die Anthocyanbildung bei Äpfeln (SIEGELMAN und HENDRICKS 1958a) wird offenbar nicht von der NER beeinflußt, sondern ausschließlich von einer Hochenergiereaktion. Unterhalb des Intensitäts-

schwellenwertes von etwa 1000 Lux wird die Anthocyanbildung, auch bei sehr langer Belichtung, nicht gefördert (vgl. den Intensitätsschwellenwert der Abb. 4). Das Wirkungsspektrum hat hier allerdings seinen langwelligen Hauptgipfel um 650 mμ. Ihre Anschauungen über den Lichteinfluß auf die Anthocyanbildung in Äpfelstücken haben SIEGELMAN und HENDRICKS (1958b) neuerdings noch näher präzisiert. Die oben kurz erwähnte neue Hypothese von HENDRICKS und BORTHWICK (1959) würde es verständlich machen, daß sich die Lage des langwelligen Gipfels im Wirkungsspektrum der HER von Objekt zu Objekt innerhalb eines bestimmten Bereichs verschieben kann.

Sicher scheint zu sein, daß bei allen in neuerer Zeit genauer untersuchten Keimpflanzen bei Einstrahlung größerer Energiemengen die Anthocyanbildung über Reaktionssysteme beeinflußt wird, die dem an der Photomorphogenese von *Sinapis alba* beteiligten Blau-Dunkelrot-Reaktionssystem zumindest sehr ähnlich sind. Dafür sprechen auch die Befunde von KANDELER (1958).

Auf Grund der Ergebnisse bei *Sinapis alba*, wo gezeigt wurde, daß die durch das Blau-Dunkelrot-Pigmentsystem absorbierte Energie sich auf *alle* beobachtbaren Photomorphosen auswirkt, dürfen wir annehmen, daß auch der Einfluß der HER auf die Anthocyanbildung *indirekter* Art ist. Nach unserer gegenwärtigen Auffassung ist auch die Anthocyanbildung *nur eine* Folge der Bildung von B (und entsprechend von P_{DR}) mit Hilfe von Strahlungsenergie (vgl. Abb. 9).

f) Über die Verbreitung des Blau-Dunkelrot-Reaktionssystems: Es ist bekannt, daß das Reversible HR-DR-Reaktionssystem weit verbreitet ist (vgl. z. B. die Zusammenfassung bei MOHR 1959b). Es dürfte bei der Photomorphogenese der potentiell grünen Pflanzen eine ähnliche fundamentale Rolle spielen wie das Chlorophyll bei der Photosynthese. Ob das Blau-Dunkelrot-Reaktionssystem ähnlich weit verbreitet ist, kann noch nicht beurteilt werden (es liegen noch zu wenig Arbeiten hierzu vor). Es spricht aber manches für eine weite Verbreitung dieses Reaktionssystems (vgl. z. B. den vorhergehenden Abschnitt über Anthocyanbildung). So dürfte ein Blau-Dunkelrot-System an der Lichthemmung der Samenkeimung von *Nemophila insignis* beteiligt sein (WAREING und BLACK 1958). Damit im Zusammenhang steht offenbar die Hemmung des Längenwachstums der Radicula bei *Nemophila insignis*. Das Wirkungsspektrum hierfür (mit Gipfeln im Dunkelrot und im Blau) ist dem von uns für die HER gefundenen sehr ähnlich (HENDRICKS u. Mitarb. 1959, persönliche Mitteilung). — Auch die Lichthemmung der Keimung von *Nigella*-Samen könnte auf dieses System zurückgehen (ISIKAWA 1957). Bei *Lactuca*-Keimlingen geht die Etiolementverhinderung des Hypokotyls wahrscheinlich über das Blau-Dunkelrot-System (FLINT und MORELAND 1939). Ebenso dürfte es bei

der lichtbedingten Etiolementverhinderung von Kartoffelschößlingen sein (WASSINK u. Mitarb. 1950a).

Gewisse Cruciferen sollen, hinsichtlich ihrer Blütenbildung, besonders auf dunkelrotes und blauviolettes Zusatzlicht (zusätzlich zu einer „Weißlicht"-Hauptlichtperiode hoher Intensität) reagieren. Diesbezügliche ältere Befunde von FUNKE (1936, 1937, 1938) wurden von WASSINK u. Mitarb. (1950b, 1951, STOLWIJK 1952, 1954) bestätigt und erweitert. Auch für *Lemma gibba* (Langtagpflanze) hat KANDELER (1956) ein ähnliches Wirkungsspektrum für Zusatzbestrahlung relativ niedriger Intensität ausgearbeitet (starker Gipfel im Dunkelrot). — Nach STOLWIJK und ZEEVAART (1955) wirken bei *Hyoscyamus niger*, im Langtag bei ausschließlich monochromatischer Bestrahlung hoher Intensität gezogen, nur Blauviolett und Dunkelrot blühfördernd. Nach den umfassenden Versuchen von MEIJER (1957), MEIJER und VAN DER VEEN (1957) und VAN DER VEEN und MEIJER (1958) über die Blütenbildung gewisser Lang- und Kurztagpflanzen läßt sich ein „Langtag-Effekt" auf folgende 2 Arten zustande bringen: a) Die Pflanze erhält Kurztag-Hauptlichtperioden mit Licht, das ein genügend hohes Quantum an Blaulicht (oder Dunkelrot ?) enthält. Als „Störlicht" erhält die Pflanze Hellrot. b) Die Pflanze erhält Langtag-Hauptlichtperioden mit Licht, das Blau oder Dunkelrot genügender Quantität enthält. In diesem Fall ist Hellrot für die Blütenbildung nicht notwendig. — Es ist sehr wohl möglich, daß in diesen Fällen das Blau-Dunkelrot-Reaktionssystem die entscheidende Rolle spielt.

Vielleicht gehen auch die unter gewissen Bedingungen von JOHNSON u. Mitarb. (1956) bei Benützung von Dunkelrot und von MEIJER (1958b) bei Benützung von Dunkelrot oder Blau beobachteten schädigenden bzw. letalen Wirkungen der Strahlung auf eine Strahlungsabsorption in dem Blau-Dunkelrot-Pigmentsystem zurück.

Summary

This paper is part of a series of papers which deal with the photomorphogenesis of young dark-grown seedlings of *Sinapis alba* L. In the preceding papers (MOHR 1957, MOHR 1959a) it was described that in these seedlings the formation of anthocyanin, the inhibition of lengthening of the hypocotyl and the formation of hairs from epidermal cells of the hypocotyl are governed by the action of two photomorphogenic action systems. The one system is the well known "reversible red far-red reaction system" (low energy reaction), the other is a high energy reaction system which can be called — in reference to the action peaks in the far-red and in the blue — "blue far-red reaction system". The chemical nature of the absorbing pigments is still unknown.

In the present paper another photomorphogenic response of the young dark-grown seedlings of *Sinapis alba*, the light dependent expansion of the cotyledons, has been investigated. It has been shown that this response is also governed by these two reaction systems. — These systems have been physiologically separated by use of methods which have been partially worked out in the preceding paper (MOHR 1959a). This separation opened the possibility to determine a more precise action spectrum of the "high energy reaction". For the determination of the action spectrum an interference filter monochromator system has been used which was recently constructed and described (MOHR and SCHOSER 1959). The action spectrum which shows a strong peak in the far-red and a smaller one in the blue is corrected approximately for the influence of the reversible red far-red reaction system. — In the discussion a working hypothesis has been advanced which in the author's opinion accounts for our present experimental knowledge.

Herrn Prof. Dr. E. BÜNNING danke ich für die beständige Unterstützung meiner Arbeit. Fräulein A. LÜNENSCHLOSS und Fräulein I. PICHLER danke ich für ihre Hilfe bei der Durchführung und Auswertung der Experimente. Auch der Deutschen Forschungsgemeinschaft bin ich zu großem Dank verpflichtet.

Literatur

BORTHWICK, H. A., S. B. HENDRICKS and M. W. PARKER: Action spectrum for photoperiodic control of floral initiation of a long-day plant, Wintex barley *(Hordeum vulgare)*. Bot. Gaz. **110**, 103—118 (1948). — Action spectrum for inhibition of stem growth in dark-grown seedlings of albino and non-albino barley *(Hordeum vulgare)*. Bot. Gaz. **113**, 95—105 (1951). — The reaction controlling floral initiation. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **38**, 929—934 (1952). — BORTHWICK, H. A., S. B. HENDRICKS, E. H. TOOLE and V. K. TOOLE: Action of light on lettuce-seed germination. Bot. Gaz. **115**, 205—225 (1954). — BRIAN, P. W.: Role of gibberellin-like hormones in regulation of plant growth and flowering. Nature (Lond.) **181**, 1122—1123 (1958). — DOWNS, R. J.: Photoreversibility of leaf and hypocotyl elongation of dark grown red kidney bean seedlings. Plant Physiol. **30**, 468—473 (1955). — DOWNS, R. J., S. B. HENDRICKS and H. A. BORTHWICK: Photoreversible control of elongation of Pinto beans and other plants under normal conditions of growth. Bot. Gaz. **118**, 199—208 (1957). — FLINT, L. H., and C. F. MORELAND: Response of lettuce seedlings to 7600 Å radiation. Amer. J. Bot. **26**, 231—233 (1939). — FUNKE, G. L.: Proeven over photoperiodiciteit by verschillend gekleurt licht. Biol. Jaarb. Nat. Genoot. Dodonaea **3**, 225—261 (1936); **4**, 345—359 (1937); **5**, 404—424 (1938). — GORDON, S. A., and K. SURREY: Red, far-red interaction on oxidative phosphorylation. Plant Physiol. **33** (Suppl.) XXIV (1958). — HENDRICKS, S. B., and H. A. BORTHWICK: Photocontrol of plant development by the simultaneous excitations of two interconvertible pigments. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 1959 (in press). — HENDRICKS, S. B., H. A. BORTHWICK and R. J. DOWNS: Pigment conversion in the formative responses of plants to radiation. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **42**, 19—26 (1956). — HILLMAN, W. S.: Nonphotosynthetic light requirement in *Lemna minor* and its partial satisfaction by kinetin. Science **126**, 165—166 (1957). — HILLMAN, W. S., and A. W. GALSTON: Inductive control of indole acetic acid oxidase by red and

near infrared light. Plant Physiol. **32**, 129—135 (1957). — ISIKAWA, S.: Interaction of temperature and light in the germination of *Nigella* seeds. I, II. Bot. Mag. (Tokyo) **70**, 264—275 (1957). — JOHNSON, S. P., W. C. HALL and J. L. LIVERMAN: Growth and fruiting responses of intact tomato plants to far-red radiation. Physiol. Plantarum (Cph.) **9**, 389—395 (1956). — KAHN, A., J. A. GOSS and D. E. SMITH: Light and chemical effects on lettuce seed germination. Plant Physiol. **31** (Suppl.), XXXVII (1956). — KANDELER, R.: Über die Blütenbildung bei *Lemna gibba* L. II. Das Wirkungsspektrum von blühförderndem Schwachlicht. Z. Bot. **44**, 153 bis 174 (1956). — Die Wirkung von farbigem und weißem Licht auf die Anthocyanbildung bei Cruciferen-Keimlingen. Ber. dtsch. bot. Ges. **71**, 34—44 (1958). — KOHLRAUSCH, F.: Praktische Physik, 20. Aufl., Bd. 1. Stuttgart: B. G. TEUBNER 1955. — KOSKI, V. M., C. S. FRENCH and J. H. C. SMITH: The action spectrum for the transformation of protochlorophyll to chlorophyll a in normal and albino corn seedlings. Arch. Biochem. **31**, 1—17 (1951). — LIVERMAN, J. L., and J. BONNER: The interaction of auxin and light in the growth responses of plants. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **39**, 905—916 (1953). — LIVERMAN, J. L., M. P. JOHNSON and L. STARR: Reversible photoreaction controlling expansion of etiolated bean-leaf disks. Science **121**, 440—441 (1955). — LOCKHART, J. A.: The influence of red and far-red radiation on the response of *Phaseolus vulgaris* to gibberellic acid. Physiol. Plantarum (Cph.) **11**, 487—492 (1958). — MAHLER, H. R.: Studies on the fatty acid oxidising system of animal tissues. IV. The prothetic group of butyryl coenzyme A dehydrogenase. J. biol. Chem. **206**, 13—26 (1954). — Nature and functions of metalloflavoproteins. Advanc. Enzymol. **17**, 233—291 (1956). — MEIJER, G.: The influence of light quality on the flowering response of *Salvia occidentalis*. Acta bot. neerl. **6**, 395—406 (1957). — Influence of light on the elongation of gherkin seedlings. Acta bot. neerl. **7**, 614—620 (1958a). — The influence of light and of growth regulators on the elongation of gherkin seedlings. Acta bot. neerl. **7**, 621—626 (1958b). — MEIJER, G., and R. VAN DER VEEN: Wavelength dependence on photoperiodic responses. Acta bot. neerl. **6**, 429—433 (1957). — MILLER, C. O.: Promoting effect of cobaltous and nickelous ions on expansion of etiolated bean leaf disks. Arch. Biochem. **32**, 216—218 (1951). — Relationship of the cobalt and light effects on expansion of etiolated bean leaf disks. Plant Physiol. **27**, 408—412 (1952). — Similarity of some kinetin and red light effects. Plant Physiol. **31**, 318—319 (1956). — The relationship of the kinetin and red-light promotions of lettuce seed germination. Plant Physiol. **33**, 115—117 (1958). — MOHR, H.: Die Beeinflussung der Keimung von Farnsporen durch Licht und andere Faktoren. Planta (Berl.) **46**, 534—551 (1956). — Der Einfluß monochromatischer Strahlung auf das Längenwachstum des Hypocotyls und auf die Anthocyanbildung bei Keimlingen von *Sinapis alba* L. (= *Brassica alba* BOISS.) Planta (Berl.) **49**, 389—405 (1957). — Der Lichteinfluß auf die Haarbildung am Hypokotyl von *Sinapis alba* L. Planta (Berl.) **53**, 109—124 (1959a). — Photomorphogenetische Reaktionssysteme in Pflanzen, Teil 1. In: Ergebnisse der Biologie, Bd. 22. Berlin: Springer 1959b (im Druck). — MOHR, H., u. G. SCHOSER: Eine Interferenzfilter-Monochromatoranlage für photobiologische Zwecke. Planta (Berl.) **53**, 1—17 (1959). — PARKER, M. W., S. B. HENDRICKS and H. A. BORTHWICK: Action spectrum for the photoperiodic control of the floral initiation of the long-day plant *Hyoscyamus niger*. Bot. Gaz. **111**, 242—252 (1950). — PARKER, M. W., S. B. HENDRICKS, H. A. BORTHWICK and N. J. SCULLY: Action spectrum for the photoperiodic control of floral initiation of short-day plants. Bot. Gaz. **108**, 1—26 (1946). — PARKINSON, A. H.: PH. D. THESIS, University of London, 1950. Zit. nach WILLIAMS 1956. — PIRINGER, A. A., and P. H. HEINZE: Effect of light on the formation of a pigment in the tomato fruit cuticle.

Plant Physiol. **29**, 467—472 (1954). — Polster, H., u. H. Reichenbach: Bestimmung von Blattflächen in situ durch lineare Messungen. Biol. Zbl. **77**, 265—277 (1958). — Scott, R. H., and J. L. Liverman: Promotion of leaf expansion by kinetin and benzylaminopurine. Plant Physiol. **31**, 321—322 (1956). — Control of etiolated bean leaf disk expansion by gibberellins and adenine. Science **126**, 122—124 (1957). — Siegelman, H. W., and S. B. Hendricks: Photocontrol of anthocyanin formation in turnip and red cabbage seedlings. Plant Physiol. **32**, 393—398 (1957). — Photocontrol of anthocyanin synthesis in apple skin. Plant Physiol. **33**, 185—190 (1958a). — Photocontrol of alcohol, aldehyde, and anthocyanin production in apple skin. Plant Physiol. **33**, 409—413 (1958b). — Skinner, C. S., and W. Shive: Stimulation of lettuce seed germination by 6-(substituted) purines. Plant Physiol. **34**, 1—3 (1959). — Steyn-Parve, E., and H. Beinert: Enzyme substrate interaction in a flavoprotein system. Fed. Proc. **16**, 256 (1957). — Stolwijk, J. A. J.: Photoperiodic and formative effects of various wavelength regions in *Cosmos bipinnatus*, *Spinacea oleracea*, *Sinapis alba* and *Pisum sativum*. Proc. kon. ned. Akad. Wet. C. **55**, 489—502 (1952). — Wave length dependence of photomorphogenesis in plants. Meded. Landb. Hogeschool Wageningen **54**, 181 bis 244 (1954). — Stolwijk, J. A. J., and J. A. D. Zeevaart: Wave length dependence of different light reactions governing flowering in *Hyoscyamus niger*. Proc. kon. ned. Akad. Wet. C **58**, 386—396 (1955). — Theorell, H.: Modern trends in flavoprotein research. IVth Intern. Congr. of Biochem., Symposium No. VIII, Reprint No. 10. Vienna 1958. — Toole, E. H., V. K. Toole, H. A. Borthwick and S. B. Hendricks: Photocontrol of *Lepidium* seed germination. Plant Physiol. **30**, 15—21 (1955). — Veen, R. van der, u. G. Meijer: Licht und Pflanzen. Eindhoven: Philips' Technische Bibliothek 1958. — Wareing, P. F., and M. Black: Similar effects of blue and infrared radiation on light sensitive seeds. Nature (Lond.) **181**, 1420—1421 (1958). — Wassink, E. C., N. Krijthe and C. van der Scheer: On the effect of light of various spectral regions on the sprouting of potato-tubers. Proc. kon. ned. Akad. Wet. **53**, 1228—1239 (1950a). — Wassink, E. C., C. M. J. Sluijsmans and J. A. J. Stolwijk: On some photoperiodic and formative effects of coloured light in *Brassica rapa*, f. *oleifera*, subf. *annua*. Proc. kon. ned. Akad. Wet. **53**, 1466—1475 (1950b). — Wassink, E. C., and J. A. J. Stolwijk: Effects of light quality on plant growth. Ann. Rev. Plant Physiol. **7**, 373—400 (1956). — Wassink, E. C., J. A. J. Stolwijk and A. B. R. Beemster: Dependence of formative and photoperiodic reactions in *Brassica rapa* var., *Cosmos* and *Lactuca* on wave length and time of irradiation. Proc. kon. ned. Akad. Wet. C **54**, 421—432 (1951). — Williams, W. T.: Etiolation phenomena and leaf expansion. In: The Growth of Leaves, F. L. Milthorpe ed. London: Butterworth's Scientific Publications 1956. — Withrow, R. B., H. W. Klein and V. Elstad: Action spectra of photomorphogenic induction and its photoinactivation. Plant Physiol. **32**, 453—462 (1957).

Dr. Hans Mohr
Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstr. 5

Planta 53, 246—292 (1959)

Aus dem Botanischen Institut der Universität München

STUDIEN ZUR ANATOMIE UND ENTWICKLUNGSGESCHICHTE EINIGER ENDOLITHISCHEN PYRENOCARPEN FLECHTEN*

Von

HANS WALTER DOPPELBAUR

Mit 19 Textabbildungen

(Eingegangen am 2. Februar 1959)

A. Einleitung

Die Umgrenzung einer Art stellt den Systematiker in manchen Fällen schon bei Blütenpflanzen vor eine kaum zu lösende Aufgabe. Wieviel größer sind die Schwierigkeiten bei den komplexen Flechten, wo auch Kulturversuche keine Klärung erwarten lassen.

Die vorliegende Arbeit unternimmt es, die anatomisch-entwicklungsgeschichtlichen Grundlagen der Taxonomie einer als besonders schwierig geltenden Flechtengruppe zu untersuchen.

Nach Möglichkeit wurde die übliche Terminologie verwendet, wie sie z. B. bei BAUR (1898 und 1901), FÜNFSTÜCK (1926), FREY (1936), MAAS GEESTERANUS (1947), SANTESSON (1952) und SERV.T (1954) erläutert ist. Seltener gebrauchte und zwei neu eingeführte Begriffe sind dort charakterisiert, wo sie gebraucht werden.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. OTTO RENNER, für sein stetes Interesse und seine Förderung nicht nur auf dem Sektor dieser Arbeit von Herzen zu danken.

Weiterhin bin ich den Lichenologen Herrn OSCAR KLEMENT (Hannover), Dr. JOSEF POELT (München) und ADOLF SCHRÖPPEL (Pfronten) für Überlassung von Literatur, für Diskussionen und für Hilfe auf Exkursionen und bei Bestimmungen sehr verpflichtet.

Der Arbeit liegen große Schnittserien zugrunde. Der Bedarf an Chemikalien und Gerät (allein knapp 25 kg Objektträger) konnte nur durch eine Sachbeihilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft gedeckt werden, wofür besonders gedankt sei.

B. Problemstellung

I. Methodik

Beim Studium der Literatur über die Anatomie der Flechten fällt auf, daß die Untersuchungen häufig nur an einzelnen Proben, Schnitten oder Dünnschliffen durchgeführt wurden. Mitunter mögen dabei zufällige oder krankhafte Bildungen für normale Teile gehalten worden sein.

Die Notwendigkeit von Serienschnitten wurde mit aller Deutlichkeit bereits von BAUR (1901) herausgestellt, doch fanden seine Untersuchungsmethoden wenig Nachahmer, vor allem nicht für Gesteinsflechten. BACHMANN (1904 und 1907) hat an Silikatflechten durch

* Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität München.

schichtweises Abblättern von Glimmerkristallen den räumlichen Bau zu erhellen gesucht; bei Kalkflechten wandte er die Dünnschlifftechnik an und beschrieb das eine jeweils erhaltene Präparat mit minutiöser Genauigkeit.

Um innerhalb der beschriebenen Bildungen zwischen typischen und abnormen Erscheinungen unterscheiden zu können, ist die Untersuchung möglichst großer Schnittreihen erforderlich. Für diese Studie wurden daher etwa 50000 Schnitte angefertigt und ausgewertet.

II. Entwicklungsgeschichte

Über die Entwicklung der *Pyrenocarpeae* findet sich in der Literatur wenig, über die der Endolithen noch weniger. Dabei kann die Entwicklungsgeschichte zur Deutung vieler anatomischer Details herangezogen werden; überdies vermag sie viele systematische und phylogenetische Hinweise zu liefern.

Zweck dieser Studie ist deshalb die Beurteilung des Wertes anatomischer Details für die Taxonomie. Eine phylogenetische Auswertung setzt allerdings noch weitere Untersuchungen an geeignetem Material voraus.

III. Variabilität

Die Abgrenzung der Arten ist gerade bei unseren Objekten schwierig, weil über die Variabilität wenig bekannt ist. Vielleicht sind manche nur in einer Probe bekannten Arten auf monströse Bildungen zurückzuführen, vielleicht führen alters- oder substratbedingte Modifikationen verschiedene Artnamen. Zweck dieser Untersuchung ist es, die Variationsbreite zu erkennen und die Einflüsse von Alter und Substrat zu unterscheiden, natürlich unter besonderer Berücksichtigung der taxonomisch wichtigen Elemente. Dabei sollte innerhalb der endocalcinen Flechten eine möglichst große Verschiedenheit sowohl im Substrat, wie auch im Mikroklima des Standorts Berücksichtigung finden. Daher wurden außer einer großen Reihe einheimischer mesophiler Arten auch Wüstenflechten, Flechten überschwemmter Flußufer, verschiedener Meeresküsten und Berggipfel herangezogen. Alles Material ist von mir selbst gesammelt und frisch fixiert worden.

IV. Einschränkung

Wegen der Fülle der Erscheinungen ist eine Beschränkung auf Teilgebiete erforderlich.

Um Täuschungen zu vermeiden, wurde, mit einer Ausnahme, nur jeweils *ein* Thallus für die Untersuchung von Variation und Entwicklung herangezogen. Damit entfällt zwangsläufig der Einwand, es seien verschiedene Species vermengt worden. Die angetroffene Variation ist also nicht allein gesichert, sondern stellt auf alle Fälle nur die minimale

Plastizität der Art dar, da ja innerhalb des einen Thallus Substrat und Mikroklima nur kleinsten Unterschieden ausgesetzt sind.

Ferner wurden wegen des taxonomischen Interesses nur die *Verrucariaceae* s. l. herangezogen; sie gelten als besonders schwer zugänglich. Die hier gezogenen allgemeinen Schlüsse gelten jedoch auch für andere Flechtengruppen, die zwar untersucht worden sind, aber hier nicht zur Diskussion gestellt werden.

Weiterhin kommen fast ausschließlich endolithische Vertreter zur Behandlung. Das in allen Schichten ziemlich lockere Netzwerk der Hyphen und Algen erleichtert die Untersuchung ungemein. Außerdem ist gerade bei endolithischen Arten eine besonders deutliche Beziehung zum Substrat zu erwarten. Verwandte hemiendolithische, epilithische Krusten und Laubflechten, die zum Vergleich herangezogen wurden, zeigten vergleichbare Verhältnisse. Sie sollen einer späteren Behandlung vorbehalten bleiben.

C. Untersuchungstechnik

I. Allgemeines

Bei der Untersuchung endolithischer Flechten lassen sich grundsätzlich zwei Wege einschlagen: einmal der von BACHMANN (1890, 1892a und b) empfohlene — Anfertigung eines Dünnschliffs und nachfolgende Entkalkung; er führt zu Einzelschliffen, die sicher nicht verformt sind, die aber doch mitunter Beschädigungen an der Thallusoberseite aufweisen. Der andere Weg, u. a. von BAUR (1901) vorgeschlagen, nimmt die Entkalkung vorweg und gestattet dann die Anfertigung von Serienschnitten. Durch Wahl einer geeigneten Technik muß dabei Sorge getragen werden, daß der Thallus vollständig erfaßt und ohne Verzerrung präpariert wird.

Das nachfolgend geschilderte Verfahren eignet sich für alle Flechten in oder auf nicht zu stark verunreinigtem Kalk oder Dolomit; stärkere Verunreinigungen vergröbern die Schnittbilder. Ersetzt man das Entkalken durch eine Behandlung mit Chlordioxyd-Salpetersäure, so läßt sich die geschilderte Technik auch für Holz- und Rindenflechten verwenden.

Der Anwendungsbereich unserer Technik findet seine Grenzen bei Kalk und Dolomit mit kristallinen Verunreinigungen, bei Flechten, die über 2—4 mm in das Substrat eindringen, und schließlich an Problemen, die mit chemischen Dingen (Flechtenstoffe, Inhalt der Ölhyphen) zu tun haben.

II. Fixierung

Beim Zurichten der zu untersuchenden Probe muß man darauf achten, daß sie ohne Beschädigung der Oberfläche so abgeschlagen wird, daß sie möglichst dünn ist, aber doch die ganze Thallusdicke umfaßt. Ein charakteristischer Umriß erleichtert die Orientierung. Nach kurzem Abspülen weicht man sie eine halbe bis ganze Stunde bei Unterdruck ein.

Entkalkende Fixierungsgemische eignen sich nicht. Besonders bewährt haben sich die Sublimatgemische nach HELLY und nach MAXIMOW, die gut und rasch eindringen. Die optimale Anwendungsdauer mag bei 2—4 Std liegen. Wegen der möglichen Reaktionen mit dem mineralischen Substrat ist mit sehr großem Überschuß an Fixiergemisch zu arbeiten. Die fixierte Probe wird in fließendem Wasser 24 Std ausgewaschen. Die Jodierung erfolgt zweckmäßigerweise erst am Schnitt.

III. Entfernung des Substrats

Nach sorgfältigem Entwässern wird die Probe mit Alkohol-Äther, dann mit 1—2%iger Zelloidinlösung durchtränkt. Konzentriertere Lösungen dringen sehr langsam ein und liefern kein besseres Ergebnis. Nach einigen Stunden kann man die Flechte aus der Lösung nehmen, das überschüssige Lösungsmittel verdunsten lassen und das entstandene Zelloidinhäutchen noch etwas feucht in 80%igen Isopropylalkohol überführen und darin einige Stunden härten. Auf diese Weise werden Hyphen und Algen fest miteinander verbunden und weitgehend geschützt.

Dann wird ausgewaschen und mit öfters gewechselter 5%iger Salpetersäure entkalkt. Falls erforderlich, kann anschließend im Paraffinschälchen mit einem Gemisch aus 1 Teil 40%iger Flußsäure und 7 Teilen 70%igem Alkohol entkieselt werden. Auf alle Fälle wird nachfolgend im fließenden Wasser 24 Std nachgewaschen.

IV. Einbettung und Schnitt

Das in der üblichen Weise entwässerte Objekt wird in normales Zedernholzöl gebracht, welches ein oder mehrere Male gewechselt wird. Flechten mit großen, harten Früchten oder sonst zum Splittern neigenden Teilen kommen über verdicktes Zedernholzöl, die anderen direkt in das Paraffin. Bereits nach wenigen Stunden kann gegossen und geschnitten werden, weil das Zedernholzöl nicht entfernt zu werden braucht.

Unsere Schnitte wurden mit einem Tetrander-Mikrotom (Jung) hergestellt. Je nach Objekt wurde eine Schnittdicke zwischen 6 und 10 μ gewählt. Bei sauberem Arbeiten ist ein Aufkleben der Schnitte mit Eiweißglycerin nicht erforderlich; es genügt nach dem Strecken die Adhäsion.

V. Färbung und Einschluß

Da Flechtenschnitte quellen und sich daher leicht ablösen, bringt man die entparaffinierten Objektträger aus Xylol über Isopropylalkohol und Alkohol-Äther kurz in 0,5%ige Zelloidinlösung, läßt den Überschuß sorgfältig abtropfen und härtet das Zelloidinhäutchen in 80%igem Isopropylalkohol nach.

Nach der üblichen Zwischenbehandlung kann gefärbt werden. Von den zahlreichen Vorversuchen abgesehen, gelangten zwei Färbungen zur Anwendung.

Eisenhämatoxylin nach Heidenhain: Die Schnitte kommen aus der Eisenalaunbeize in die 1:10 verdünnte Hämatoxylinlösung und werden progressiv bis zum Erreichen des gewünschten Tones gefärbt. Beim Blauen mit Leitungswasser traten aber oft Störungen auf (Chlorierung?); deswegen wurde diese Färbung wieder aufgegeben.

Azan nach Heidenhain: Diese Färbung wurde in der üblichen Form angewendet (vgl. Romeis 1943). Wenn auch bei den endolithischen Flechten das Orange G nicht mitfärbt, spielt es doch bei Holz- und Rindenflechten eine wichtige Rolle.

Abschließend kommen die Schnitte aus Isopropylalkohol in Alkohol-Äther. Hierdurch löst sich das Zelloidinhäutchen auf. Über Isopropylalkohol gelangen dann die Präparate in Xylol und werden in Cädax eingeschlossen.

VI. Kontrolle

Zur Kontrolle der Präparation dienten einzelne Dünnschliffe der untersuchten Flechten.

Außerdem lassen sich die einzelnen Schnitte einer Flechte untereinander vergleichen, vor allem, wenn substratbedingte charakteristische Wachstumsformen (etwa um Kristalle im Substrat) auftreten.

VII. Auswertung

Zur Auswertung diente ein Leitz-Mikroskop (G-Stativ, Kreuztisch, übliche Ausrüstung). Mit Hilfe eines Zeichenprismas, später eines Projektionsprismas, wurden viele Einzelheiten auf 1000 Zeichnungen festgehalten. Ferner dienten etwa 1800 Mikrofotos (davon knapp 200 farbig) der Auswertung. Nach ihnen wurden auch die Skizzen in dieser Arbeit angefertigt.

D. Der Thallus

I. Bau des Thallus

1. Allgemeines. Alle untersuchten Thalli endolithischer *Verrucariaceae* s. lat. sind klar heteromer. Auf einheitlichem Substrat sind Rinden- und Algenschicht ziemlich gleichmäßig dick, während die Markschicht (Rhizoidenzone BACHMANNS) und damit der gesamte Thallus starke Unterschiede aufweist.

Die *Rindenschicht* ist meist zwischen 20 und 60 μ mächtig, doch zeigen sich hier starke Standortsverschiedenheiten. Eine Probe von *Thelidium immersum* aus einer dunklen Felsspalte wies eine nur 5—20 μ starke Rinde auf, eine Probe derselben Art von der Oberfläche des gleichen Kalkfelsens besaß eine 50—70 μ messende Rinde. Die obersten Zellen der Hyphen sind abgestorben; eine scharfe Grenze dieser Epinekralschicht gegen den lebenden Teil der Rindenschicht ist bei den meisten Arten nicht festzustellen.

Die *Algenschicht* ist bei allen untersuchten Proben stärker als die Rindenschicht. Ihre Dicke liegt meist zwischen 60 und 120 μ, doch wurden auch Werte über 150 μ gemessen. In ihr sind die Algen in Gruppen gehäuft, die im Schnittbild 5—10, bei *Staurothele meylanii* bis über 20 Algenzellen aufweisen. Fast immer sind die Algengruppen höher als breit. Die Mächtigkeit der Algenschicht scheint ebenfalls von der Helligkeit am Standort abhängig zu sein.

Die *Markschicht* nimmt bei den untersuchten Flechten allmählich an Dichte ab, je weiter sie sich von der Oberfläche entfernt. Eine Unterscheidung von Mark und Rhizoidenzone (ZSCHACKE 1934) ist bei Endolithen nicht möglich. Die Stärke der Markschicht wechselt je nach Art, Alter, Substrat und Standort innerhalb weitester Grenzen.

Die gesamte *Thallusdicke* liegt bei den meisten Arten und Proben um knapp 1 mm, doch wurden Werte zwischen 0,2 und über 4 mm ermittelt.

2. Ölhyphen. In der Markschicht vieler endolithischer Flechten finden sich Ölhyphen (Sphäroidzellen) in Gestalt kleinerer oder größerer ölerfüllter Einzelzellen oder Zellreihen. Bei anderen Arten derselben Standorte scheinen sie dagegen zu fehlen.

Es ist ziemlich selten, daß bereits unmittelbar unter der Algenschicht die ersten kleinen Ölhyphen auftreten. Meist sind die obersten 0,1 bis

0,2 mm tiefer anzutreffen. In Einzelfällen finden sie sich massenhaft in einer Tiefe von 1,5 mm, sind dagegen 1 mm unter der Oberfläche sehr

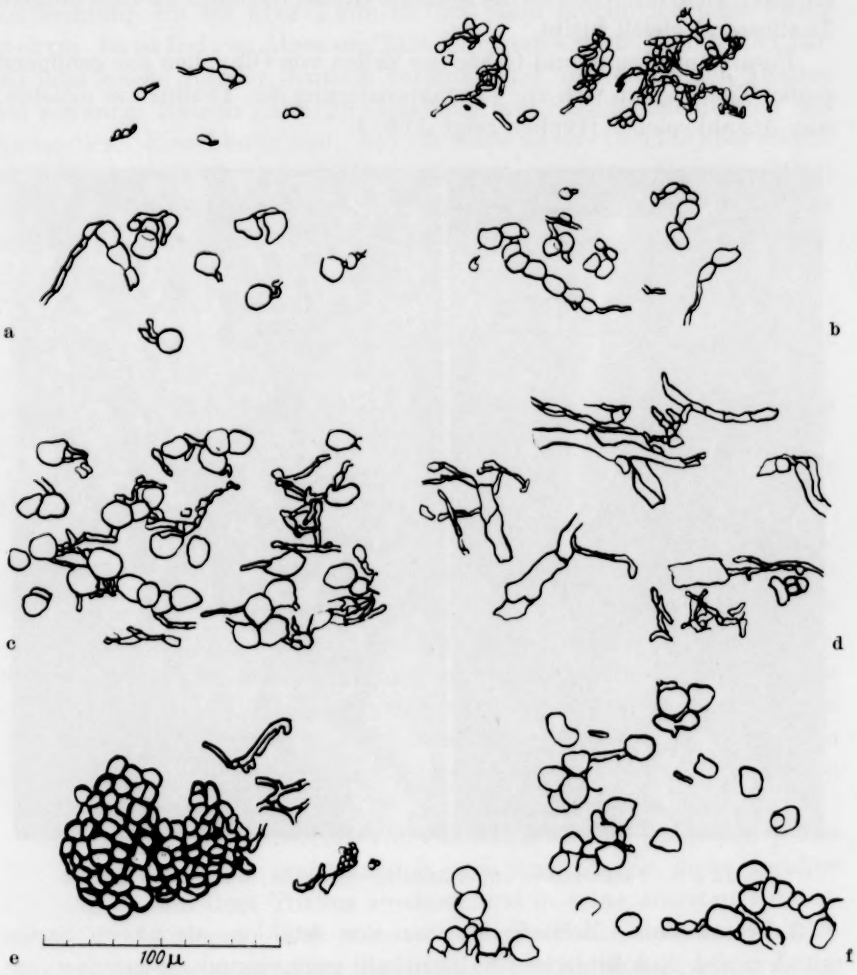


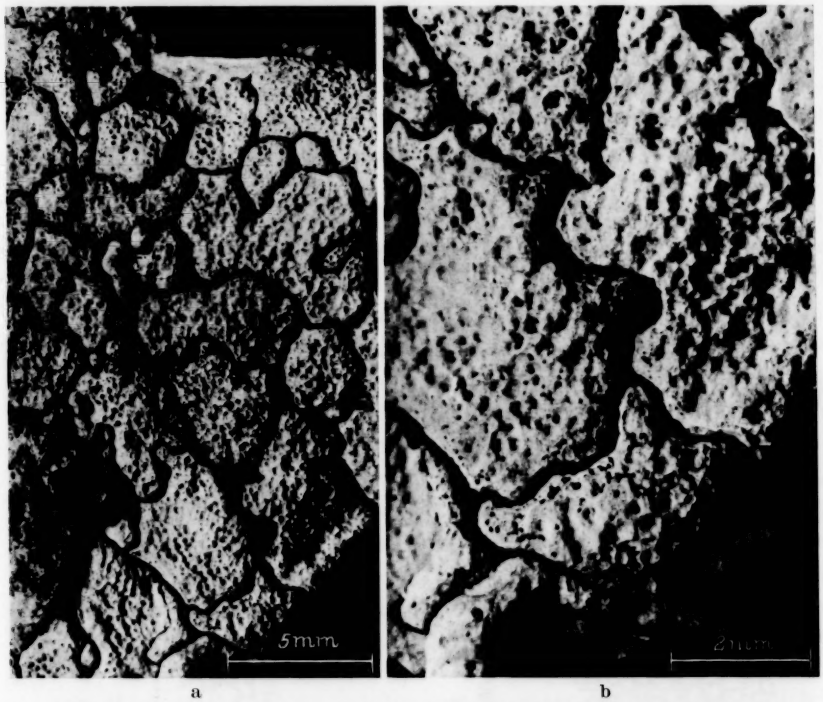
Abb. 1a—f. Ölhyphen. a *Protobagliettoa parmigera*, oben aus 0,2 mm, unten aus 0,4 mm Tiefe; b *Thelidium immersum*, oben aus 0,25 mm, unten aus 0,4 mm Tiefe; c *Protobagliettoa steineri*, aus 0,5 mm Tiefe; d *Thelidium sp.*, aus 0,5 mm Tiefe; e *Verrucaria sp.*, aus 0,6 mm Tiefe; f *Amphoridium sp.*, aus 2 mm Tiefe

spärlich und fehlen bei 0,7 mm ganz. Allgemein liegen sie unter den Früchten meist etwas flacher.

Dabei sind die Sphäroidzellen nicht gleichmäßig über den ganzen Thallus verteilt, sondern treten mitunter gehäuft auf, während sie strekkenweise ganz oder fast ganz zu fehlen scheinen. In manchen Thalli kommen sie nur vereinzelt vor, in anderen herrschen sie in den tieferen

Thallusteilen geradezu vor. Weiterhin fällt auf, daß die obersten Ölzellen einen erheblich kleineren Durchmesser besitzen; erst in etwas größerer Tiefe erreichen sie die normale Größe, die dann bis zum unteren Thallusrand gleich bleibt.

Form, Anordnung und Größe der Zellen von Ölhyphen aus genügend großer Tiefe eignen sich zur Charakterisierung des Thallus am meisten; eine Anzahl solcher Hyphen zeigt Abb. 1.



a b

Abb. 2a u. b. Thallusränder auf Kalkstein, eingesenkt; b stärker vergrößert

3. Protothallus. Meist findet man den dunklen, algenlosen Saum, mit dem sich endolithische Flechtenthalli gegeneinander abgrenzen, als Protothallus (Prothallus, Vorlager) bezeichnet. Daß diese Gebilde bei den *Verrucariaceae* aber dem Protothallus einer *Pertusaria* oder *Pannaria* nicht einmal analog sind, lehrt schon ein oberflächlicher Vergleich. Bei einer *Pertusaria* handelt es sich um eine Struktur, die mit dem Wachstum in Zusammenhang steht und später in einen echten Thallus umgewandelt wird; hier schreitet der Protothallus voran.

Ein frei gegen vegetationslose Oberfläche, endolithische Algenvegetation oder biologisch unterlegene Arten wachsender Verrucarienthallus dringt fast ohne äußerlich sichtbaren Rand vor. Seine Größe wird mehr durch die Farbe der Oberfläche erkennbar.

Gleich starke Arten aber stellen beim Aufeinandertreffen das Wachstum ein, die einander berührenden Hyphen werden leicht torulös und schwärzen sich. In manchen Fällen entsteht durch Verzweigung und Verflechtung ein bis über 1 mm in den Stein hineinreichendes Plectenchym. Es ist frei von Algen und fällt durch seine große Sprödigkeit auf. Oft sind solche Ränder deutlich versenkt und umgrenzen den Thallus wie schwarze Rinnen (Abb. 2). Quellung und Sprödigkeit dürften das Agens dieser Einsenkung sein. Auf alle Fälle ist das Gebilde aber stationär. Keineswegs tritt es an Substratsprüngen auf, wie HOLDER (1954) meint. Weil aber eine Unterscheidung nicht immer möglich ist (etwa bei *Rhizocarpon*), mag der Namen Protothallus auch hier stehenbleiben. Er wird also rein deskriptiv für eine algenfreie Thallusrandzone gebraucht.

4. Besonderheiten. Gelegentlich treten in der Markschicht Nester kleiner Zellen auf, die BACHMANN (1918a) als *Sphäroidzellnester* beschreibt. Sie scheinen nicht artspezifisch, sondern substratabhängig zu sein. Sie wurden bei *Verrucaria dufourii* in einer Probe (Obj. 11) reichlich beobachtet, fehlen jedoch in einer anderen Probe (Obj. 4), die nur wenige Meter davon entfernt aufgesammelt worden ist.

Sicher substratbedingt sind mehrreihige *Hyphenstränge* und ein- oder mehrschichtige *Plectenchymplatten*, die meist an Störungen des Substrats auftreten. Über ihre Bedeutung kann nichts ausgesagt werden.

Gelegentlich kommen auf der Thallusoberfläche *fremde Algen* vor. Meist handelt es sich um *Cyanophyceen*, mit denen die Flechtenhyphen nicht oder kaum in Beziehung treten. Thalli mit zweierlei Algen im regulären Thallusverband wie bei ebenfalls untersuchten endolithischen discocarpen Flechten fanden sich in dem hier zur Diskussion stehenden Material nicht.

Das massenhafte Auftreten von *Flechtenparasiten* drängt sich jedem Beobachter sofort auf; meist handelt es sich um braune, dicke, torulöse Hyphen, die auf dem Thallus wuchern und in seine obersten Rindenschichten eindringen. Das lockere Rindengeflecht vermag den eindringenden Parasitenhyphen nur wenig Widerstand zu leisten. Langsamer wachsenden Schmarotzern begegnet das Flechtenlager durch Bildung eines dichten Plectenchyms.

II. Entwicklung des Thallus

1. Allgemeines. Es ist verhältnismäßig schwierig, das freie Wachstum von endolithischen Flechtenthalli zu untersuchen, weil die Besiedelung des Substrats durch Flechten stets erheblich hinter der durch Algen herhinkt. Demnach dringt also immer der Flechtenrand gegen eine bereits vorhandene Algenvegetation vor. Hierbei handelt es sich um

eine 100—150 μ tief in das Gestein eindringende Schicht, in der Cyanophyceen, besonders *Gloeocapsa*-Arten vorherrschen. Ferner finden sich Anflüge von Pilzen, die an der Oberfläche ein ziemlich kümmerliches Dasein führen. Hyphen und Gallerthüllen teilen durch ihre Färbung der Gesteinsoberfläche einen grauen Farbton mit.

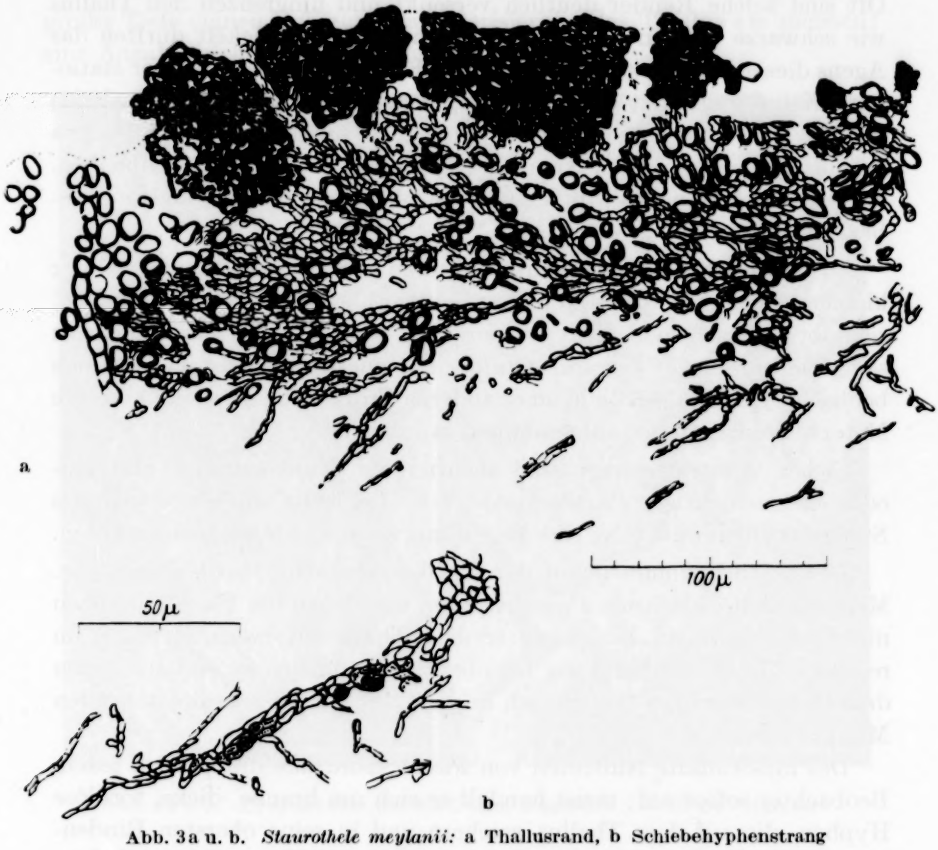


Abb. 3a u. b. *Staurothele meylanii:* a Thallusrand, b Schiebehyphenstrang

Die folgenden Angaben beziehen sich auf *Staurothele meylanii*. Sie treffen, von den Maßen abgesehen, mit geringen Abweichungen auch für andere endolithische Flechten zu.

2. Vordringen der Hyphen. Der Thallus dringt mit seinen randlichen Hyphen hauptsächlich in einer Tiefe von 120—140 μ, also nicht an der Oberfläche vor. An Hindernissen, etwa Kristallen im Substrat tritt ein Stau und ein Umwachsen ein. Die oberflächennah und mitteltief wachsenden Hyphen enden mit stumpfen Zellen; sie bestehen aus dünnwandigen, sehr protoplasmareichen, torulösen Zellen von der Größe 3—7 $\times$ 2—4 μ. In manchen messen die Kerne bis zu 2 μ. Dagegen enden

die in der Tiefe wachsenden Hyphen zugespitzt (ähnlich Borstenzellen, BACHMANN 1907) und bestehen aus plasmaärmeren, schlanken Zellen der Größe 5—12 × 1,5—2 μ.

Die Zone des stärksten Vordringens bildet einen Vegetationsscheitel, der etwa am unteren Saum der endolithischen Algenvegetation liegt (Abb. 3a und 4). Von dieser Höhe aus krümmen sich kurzzellige Hyphen empor und stehen schließlich fast senkrecht zur Oberfläche. Diese Wachstumsrichtung dürfte für die Eliminierung der thallusfremden Algen und Pilzhyphen eine große Rolle spielen. Diese Hyphen verzweigen sich gegen die Oberfläche zu stark und enden mit kurzen, bräunlichen, torulösen Zellen, den Deckhyphen BACHMANNS (1892a). Offensichtlich werden diese Deckhyphen im Laufe der Zeit abgetragen; 4—5 mm vom Rand nach innen fehlen sie bereits völlig.

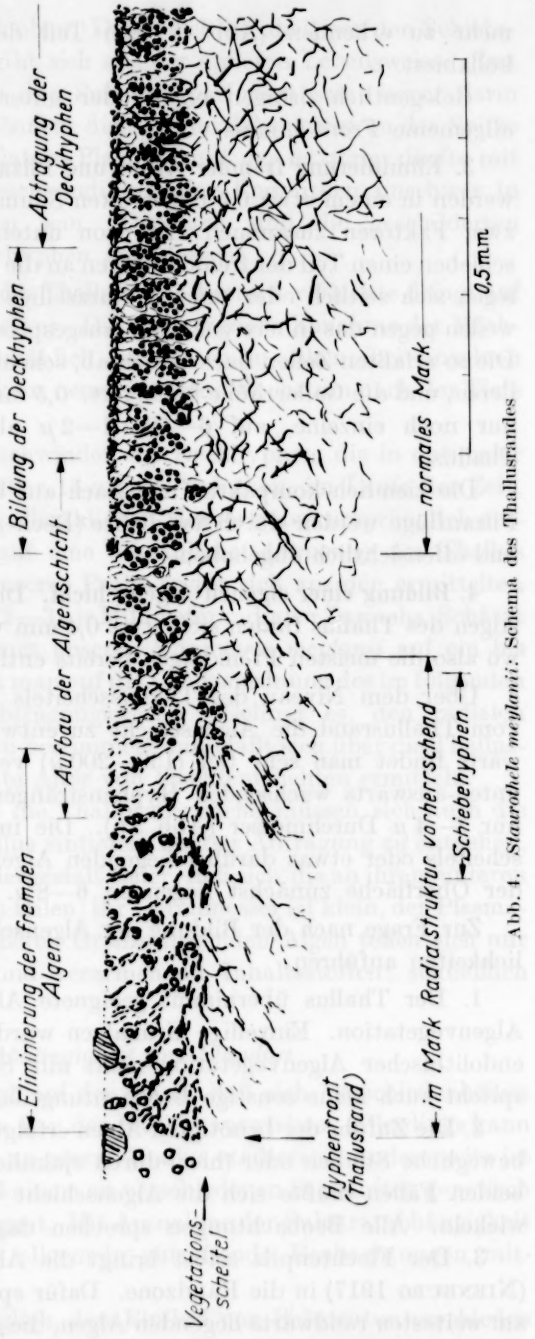


Abb. 4. *Staurothele neglanii*: Schema des Thallusrandes

Unterhalb des Vegetationsscheitels herrscht bei Einzelhyphen und Hyphenbündeln die Wachstumsrichtung nach außen unten vor. Einige Zehntelmillimeter vom Rand durchsetzen sie das Substrat nach allen Richtungen. Bei 1 mm Abstand zum Rand ist keine vorherrschende Richtung

mehr zu erkennen (Abb. 4). Ein Teil der alten Hyphen erscheint kollabiert.

Gelegentlich dringen obere oder untere Hyphen etwas über die allgemeine Front hinaus vor.

3. Eliminierung fremder Algen und Pilzanflüge. Die fremden Algen werden in einem etwa 0,5 mm breiten Saum eliminiert. Hierbei wirken zwei Faktoren zusammen: Die von unten her wachsenden Hyphen schieben einen Teil der fremden Algen an die Oberfläche. An die anderen legen sich seitlich oder rundum kurzzellige Hyphen, dringen auch zuweilen gegen das Innere vor, ohne ausgesprochene Haustorien zu bilden. Die so erfaßten Zellen flachen sich ab, scheinen die Inhaltsstoffe zu verlieren, und die Gallerthülle kollabiert. 0,5 mm vom Rand entfernt liegen nur noch einzelne, auf $6—10 \times 1—2\,\mu$ abgeflachte tote Hüllen im Thallus.

Die ziemlich kompakten und flach auf bzw. im Substrat sitzenden Pilzanflüge werden durch das dichte (Deck-)Hyphengeflecht abgegrenzt und offensichtlich abgehoben.

4. Bildung einer eigenen Algenschicht. Die ersten sicher erkennbaren Algen des Thallus finden sich etwa 0,4 mm von der Front der Hyphen, wo also die meisten Fremdalgen bereits entfernt sind.

Über dem Niveau des Thallusscheitels beginnt sich etwa 0,5 mm vom Thallusrand die Algenschicht zu entwickeln. Noch weiter randwärts findet man sehr tief ($150—200\,\mu$) vereinzelte, an oder in nach unten-auswärts wachsenden Hyphensträngen liegende Algenzellen mit nur $3—4\,\mu$ Durchmesser (Abb. 3b). Die im Niveau des Vegetationsscheitels oder etwas darüber liegenden Algenzellen messen $4—6\,\mu$, die der Oberfläche zunächst liegenden $6—8\,\mu$.

Zur Frage nach der Bildung der Algenschicht lassen sich drei Möglichkeiten anführen:

1. Der Thallus übernimmt geeignete Algen aus der vorhandenen Algenvegetation. Einzellige Grünalgen wurden in unseren Proben von endolithischer Algenvegetation nicht mit Sicherheit ausgemacht. Es spricht auch keine sonstige Beobachtung dafür.

2. Die Zufuhr der benötigten Algen erfolgt von oben her, etwa durch bewegliche Stadien oder (hier) durch ejakulierte Hymenialgonidien. In beiden Fällen müßte sich die Algenschicht von oben nach unten entwickeln. Alle Beobachtungen sprechen dagegen.

3. Der Flechtenpilz selbst bringt die Algen durch Schiebehyphen (NIENBURG 1917) in die Randzone. Dafür sprechen: die tiefe Lage der am weitesten randwärts liegenden Algen, die anders nicht zu deuten ist; ferner die geringe Größe der einzeln auftretenden Algenzellen, ihre Lage in oder an Hyphensträngen, deren Wuchsrichtung und der Aufbau der

Algenschicht von unten nach oben. Die Verschiedenheit von den Schiebehyphen der Pertusarien ergibt sich aus der anderen Lebensweise. Erst muß durch Hyphenstränge das Substrat perforiert sein, bevor darin Algen verschoben werden können; diese liegen daher nicht an der Spitze der Schiebehyphen. Die relative Plasmaarmut der letzteren dürfte mit der geringen Wachstumsgeschwindigkeit der Endolithen unschwer in Zusammenhang zu bringen sein. Demnach sind die geschilderten Hyphenstränge als Schiebehyphen aufzufassen.

5. Weitere Entwicklung des Thallus. Die Front der Flechte dringt auf fast der ganzen Thallusdicke vor. Die nachträgliche Zunahme der Mächtigkeit scheint nur sehr allmählich vonstatten zu gehen; bei einzelnen Flechten dürfte überhaupt kein nennenswertes Wachstum nach der Tiefe zu mehr stattfinden.

Wie bereits angeführt, schwinden die Deckhyphen, die in optimaler Entwicklung den Thallus über 15 μ hoch bedecken, im Laufe der Zeit. Hieraus, wie auch aus dem allmählichen Hervortreten ursprünglich eingesenkter Früchte, kann auf eine allmähliche *Abtragung* des Thallus geschlossen werden. Bei unserer Probe ergibt sich aus den ermittelten Werten eine Abtragung von 2—3 μ je Millimeter radialen Zuwachs. Schätzt man das jährliche Wachstum unserer *Staurothele meylanii* auf ein bis einige Millimeter, so kommt man auf die Größenordnung des im folgenden Abschnitt angeführten Abtragungswertes. Gelingt es, den radialen jährlichen Zuwachs exakt zu bestimmen, dann läßt sich über die Thallusabtragung auch das absolute Alter von Flechtenfrüchten ermitteln.

In ähnlicher Weise wie die Thallusoberfläche müssen sich auch die Schichten des Flechtenthallus eintiefen, um der Abtragung zu entgehen. Die Algenschicht legt sich dergestalt tiefer, daß sich die an ihrem unteren Rand liegenden Algen rasch teilen; ihr Durchmesser ist klein, der Plasmagehalt groß. Die an der oberen Grenze liegenden Algen teilen sich nur selten, sie schwellen an und verarmen an Inhaltsstoffen; schließlich gehen sie zugrunde.

III. Abhängigkeit vom Standort

1. Allgemeines. Es liegt auf der Hand, daß sich Verschiedenheiten des Standorts auch auf den Bau der Flechte auswirken. Allerdings kann man diese Einflüsse kaum an *einem* Thallus studieren. Andererseits ist aber unwahrscheinlich, daß einem an verschiedenen Standorten genetisch einheitliches Material begegnet. Mit Ausnahme der Substratabhängigkeit sollen deshalb nur einige allgemein zutreffende Beobachtungen mitgeteilt werden.

2. Substrat. Es ist möglich, den Einfluß von Substratunterschieden an *einem* Thallus zu studieren, wenn man solche Flechten verwendet, die über eine Gesteinsgrenze hinwegwachsen. In unserem Fall handelt es

Abb. 5a u. b. *Staurothele meylanii:* a Thallus in feinem grauen Kalk; b Thallus in einer Calcitader

sich um *Staurothele meylanii* (Obj. 73), die auf einem großen Gerölle eines gequälten Gesteins vom sehr feinen grauen, silikathaltigen Kalk über eine Calcitader hinwegwuchs.

Im grauen, homogen erscheinenden Kalk ist die Rindenschicht dünner, ebenso die Algenschicht mit ihren gruppenweise liegenden Algen. Die Dichte der Markschicht nimmt gleichmäßig nach unten ab (Abb. 5a).

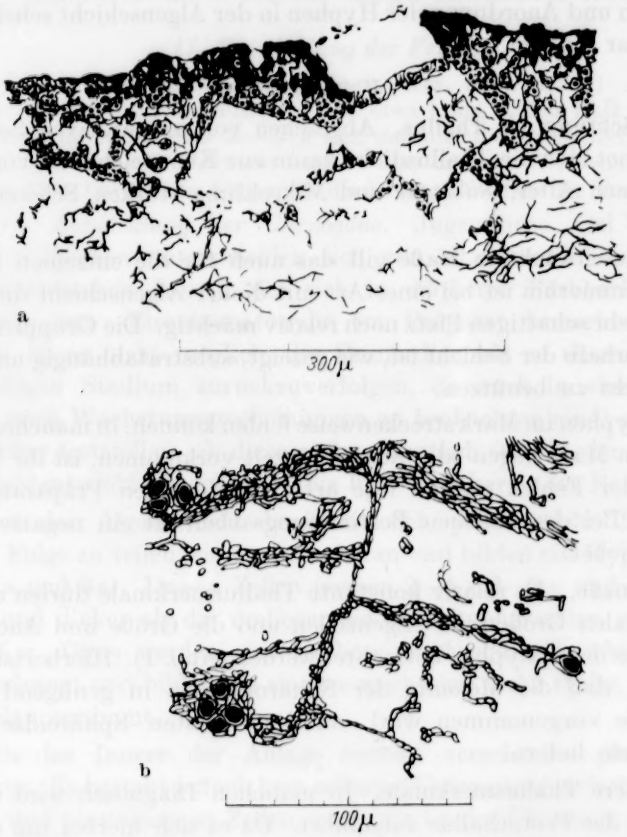


Abb. 6a u. b. Thallus von *Staurothele meylanii*. a Kompakte Kristalle werden gemieden; b Spaltbarkeitsflächen der Calcitkristalle werden wiedergegeben

In der hellen Calcitader sind Rinden- und Algenschicht wesentlich stärker, die Algen liegen z. T. in Reihen oder Platten in den Spaltflächen der Calcitkristalle. Die Wachstumsrichtung der Hyphen zeigt außerdem, daß sich die Hyphen an die vorhandenen Risse und Sprünge im Substrat halten (Abb. 5b und 6b). Die Folgerung, daß die Hyphen in Kristalle nur schwer einzudringen vermögen, wird bestätigt durch eine andere Probe derselben Art (Obj. 74), in welcher kristallisierte Einschlüsse im sonst ziemlich feinkörnigen Gestein in den Präparaten als scharfumgrenzte Negative erscheinen (Abb. 6a).

Die chemischen Unterschiede scheinen keine nennenswerte Variation im Thallus hervorzurufen.

3. Mikroklima. Der Einfluß der Beleuchtung auf die Stärke von Rinden- und Algenschicht wurde bereits angeführt. Damit ist auch die Färbung des Thallus gewissen Schwankungen unterworfen.

Die Feuchtigkeit des Standorts prägt sich im Bau weniger stark aus. Form und Anordnung der Hyphen in der Algenschicht scheinen hier verwendbar zu sein.

IV. Auswertung

1. Schichtung des Thallus. Abgesehen von präparativen Schwierigkeiten eignet sich die Thallusdicke kaum zur Kennzeichnung von Arten, weil sie nach Alter, Substrat und Mikroklima starken Schwankungen ausgesetzt ist.

In abgeschwächtem Maße gilt das auch für die einzelnen Schichtstärken. Immerhin ist bei einer Art mit dicker Algenschicht diese auch an einem sehr schattigen Platz noch relativ mächtig. Die Gruppierung der Algen innerhalb der Schicht ist, wie gezeigt, substratabhängig und daher mit Vorsicht zu benützen.

Da Ölhyphen im Mark streckenweise fehlen können, in manchen Fällen sehr tief im Mark liegen oder nur vereinzelt vorkommen, ist ihr Vorhandensein oder Fehlen nur an lege artis angefertigten Präparaten festzustellen. Bei der üblichen Bestimmungsarbeit ist ein negativer Entscheid unsicher.

2. Zellmaße. Als relativ konstante Thallusmerkmale dürfen dagegen die maximalen Größen der Algenzellen und die Größe und Anordnung der Zellen in den Ölhyphen betrachtet werden (Abb. 1). Hierbei ist darauf zu achten, daß die Messung der Sphäroidzellen in genügend großer Thallustiefe vorgenommen wird, da die obersten Sphäroidzellen zu kleine Werte liefern.

3. Weitere Thallusmerkmale. In manchen Diagnosen wird die Beschreibung des Protothallus aufgeführt. Da es sich hierbei um ein von einem Nachbarthallus induziertes Gebilde handelt, das je nach Angrenzer, Substrat, Mikroklima und Vitalität der Flechte sehr verschieden aussehen kann, hat dieses Merkmal keinen taxonomischen Wert. Dasselbe gilt für Durchmesser und Umriß des Flechtenlagers.

E. Die Frucht

I. Allgemeines

Bei der Untersuchung unserer Proben fiel auf, daß sich alle studierten Arten in wenige Entwicklungstypen einreihen lassen. Daher wurde jeweils das günstigste Objekt als Modell ausgewählt und beschrieben.

Die anderen untersuchten Arten, auch die extremer Standorte, schließen sich eng an diese fünf Typen an.

Leider stand für die Identifizierung der Arten keine Vergleichssammlung zur Verfügung. Die Bestände der Botanischen Staatssammlung München wurden zwar von SERVÍT bearbeitet, aber noch nicht benannt. Indessen kommt es im Rahmen dieser Arbeit nur auf die allgemeinen Ergebnisse an, so daß der Mangel unerheblich bleibt.

II. Entwicklung der Frucht

1. Typ der *Protobagliettoa parmigera* Serv. (Obj. 84). *a) Allgemeines.* Thallus wechselnd dick, bei unserer Probe etwa 1 mm in den Kalk eingesenkt. Rinde bereits im Kalk, etwa 30—50 μ tief, darunter die Algenschicht mit etwa 90—120 μ Dicke. Die Markschicht beginnt also in einer Tiefe von 90—150 μ. In ihr, in 150—180 μ Tiefe, finden wir die jüngsten Stadien der Fruchtanlagen.

b) Die Entwicklung der Carpogone. Jugendliche, im Wachstum begriffene Hyphen unterscheiden sich von alten durch ihren reichen protoplasmatischen Inhalt, der sich in stärkerer Färbbarkeit durch Azokarmin bzw. Eisenhämatoxylin im Präparat bemerkbar macht. Dennoch ist es nicht möglich, die Primordien bis zu einem ein- oder wenigzelligen Stadium zurückzuverfolgen, da auch in einem älteren Thallus noch Wachstumserscheinungen zu beobachten sind; es läßt sich nicht sicher feststellen, ob diese außerordentlich verschiedenen Gebilde zur Fruchtentwicklung gehören. Sie bleiben daher außer Betracht.

Unter der Algenschicht beginnen sich plasmareiche Hyphen in rascher Folge zu teilen, sie wachsen heran und bilden ein Hyphenknäuel (Abb. 7a und 8a). Dessen Zellen messen 2—5 × 2—3 μ und sind damit kürzer und dicker als die umliegenden Markhyphenzellen mit 3—8 × 1,5—2,5 μ. Diese werden von der heranwachsenden Anschwellung zur Seite gedrängt und bilden um sie eine wechselnd dicke Hülle, welche nur Anilinblau annimmt.

Auch das Innere der Anlage enthält verschieden plasmahaltige Elemente. Es besteht jedoch kein scharfer Unterschied zwischen plasmareichen und plasmaarmen Zellen, vielmehr ist der Übergang allmählich, so daß es, von wenigen Ausnahmen abgesehen, nicht möglich ist, generative und vegetative Hyphen sicher zu trennen. Darauf hat bereits BAUR (1901) hingewiesen. Es muß also dahingestellt bleiben, ob das paraphysogene Material schon früh von den ascogonbildenden Zellen entwicklungsgeschichtlich abgetrennt wird. Beide Elemente entstammen dem nämlichen Knäuel.

c) Die Entwicklung der Ascogone. Der Carpogonknäuel wächst wenig nach der Tiefe zu, mehr in die Breite, am meisten nach oben (Abb. 7b). Durch das Wachstum legen sich ihm immer mehr Hyphen des Thallus von außen an. Über diesem Gebilde füllt sich der Raum von unten

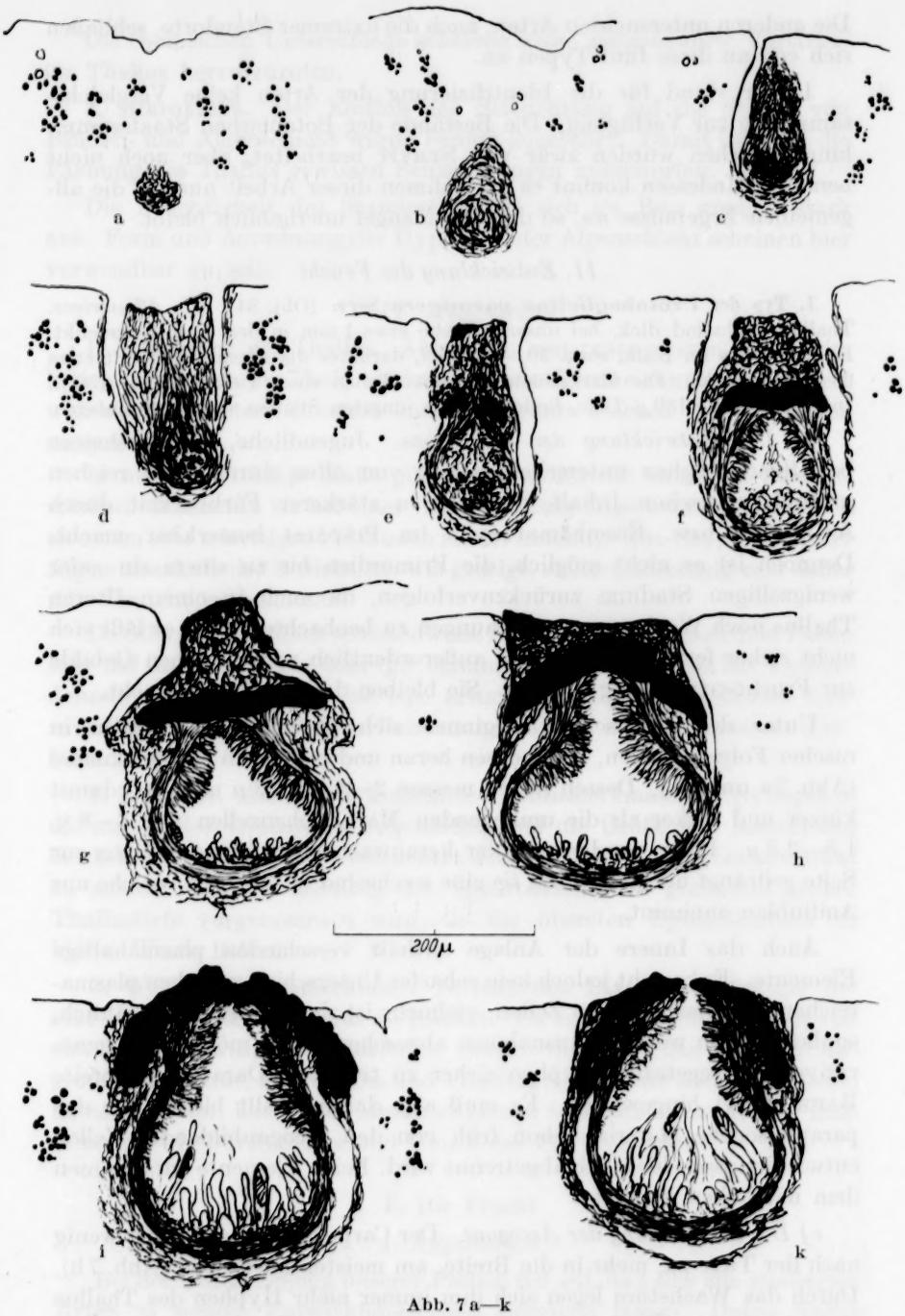


Abb. 7 a—k

Abb. 7 a—q. *Protobagliettoa parmigera*. a—k Entwicklung der Frucht (vgl. Text);

nach oben mit zunächst torulösem Hyphenwerk bis zur Thallusoberfläche hin an (Abb. 7c); es bildet sich ein Paraplectenchym aus Zellen mit 2—3 μ Durchmesser. Unter Einschluß dieses Komplexes erreicht die Fruchtanlage jetzt eine Höhe von etwa 200 μ, ihr größter Durchmesser (in 150 μ Tiefe) beträgt etwa 100 μ. Im Inneren herrschen Vertikalstrukturen vor (Abb. 7d und 8b).

Das Zentrum lockert sich allmählich auf, durch die Lücken werden die Zusammenhänge besser erkennbar. Von einzelnen Nestern stark

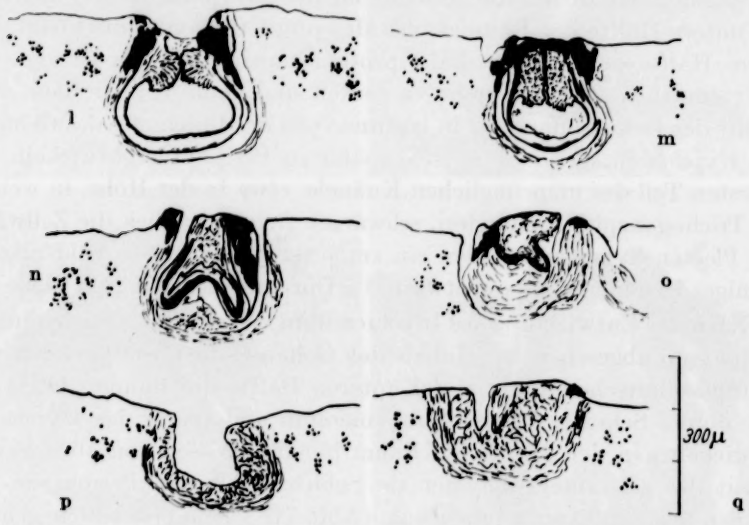


Abb. 7 l—q. Absterben der Frucht und Plombierung des Thallus (vgl. Text)

färbbarer Zellen aus setzt die Entwicklung der Ascogone ein. Diese bestehen aus einer etwa kugeligen zentralen Zelle (3 μ Durchmesser), einigen Zellen, die sich ihr anschließen oder sich um sie winden (2—2,5 μ Durchmesser), und einem protoplasmaärmeren Strang, der die Anlage nach oben durchwächst (1,5—2 μ Zelldurchmesser). Die Deutung als Ascogon und Trichogyne stößt nach Vergleich mit den anderen Entwicklungsreihen auf keine Schwierigkeiten. Die Trichogynen lassen sich aber ausnahmslos nur bis an den unteren Rand des Paraplectenchymkomplexes verfolgen, wo sie, noch 80—100 μ von der Thallusoberfläche entfernt, endigen. Unter den mindestens 600 Trichogynen der untersuchten Präparate des Objekts reicht keine einzige weiter. Offensichtlich sind sie nur rudimentäre Gebilde, die keine praktische Bedeutung mehr besitzen. Im ganzen untersuchten Thallus war übrigens auch kein Pyknidium zu finden.

d) Die Differenzierung des Fruchtkerns. Die Wand des Knäuels entwickelt sich zu einer Fruchtwand (Excipulum); dabei platten sich die

vordem im optischen Schnitt polygonalen Zellen in charakteristischer Weise ab, sie messen um $4 \times 1\,\mu$. Die Hyphen des Thallus, die sich im Verlauf des Wachstums der Fruchtanlage angeschmiegt haben, verquellen zum Teil, andere werden zerdrückt. Die Fruchtanlage hängt oft nur durch verhältnismäßig wenige Hyphen mit dem umgebenden Thallus zusammen. Struktur und Verquellungszustand lassen erkennen, daß die fast regelmäßig auftretenden tiefen Spalten neben den Knäueln und jungen Früchten keine Kunstprodukte der Präparation darstellen.

Aus den Ascogonen wuchern gut färbbare Hyphen und erfüllen etwa die untere Hälfte des Raumes, den das junge Gehäuse umschließt. Die obere Hälfte nehmen vertikale, protoplasmaarme Hyphenstränge ein, die vermutlich als Paraphysen zu deuten sind (Abb. 7e). In diese obere Hälfte des Innenraumes hinein beginnen von der Innenseite des Gehäuses aus Hyphen zu sprossen, die sich später zu Periphysen entwickeln. Im obersten Teil des ursprünglichen Knäuels, etwa in der Höhe, in welcher die Trichogynspitzen endigten, schwärzen sich allmählich die Zellwände des Plectenchyms und bilden ein zunächst ringförmiges, bald plattenförmiges Involucrellum von etwa $100\,\mu$ Durchmesser und $25\,\mu$ Dicke.

Nach der Entwicklung des Involucrellum verschleimt, von den jungen Periphysen abgesehen, der Inhalt des Gehäuses fast völlig. Auch vom protoplasmareichen Material der unteren Hälfte des Raumes bleibt nur eine dünne Schicht, die das Subhymenium und später das Hymenium entwickelt. In den nun freien Raum hinein sprossen von allen Seiten, soweit die genannte subhymeniale Schicht fehlt, die Periphysen und erfüllen fast den ganzen Innenraum (Abb. 7f). Nun erst bilden sich aus dem Subhymenium die Ascusanlagen, die zu einer Größe bis höchstens $14 \times 7\,\mu$ heranwachsen, dann das Wachstum einstellen und einkernig bleiben. Dieses Stadium dauert offensichtlich längere Zeit, denn es findet sich relativ häufig. Vom unteren Saum des Gehäuses bis zum oberen Rand des Involucrellum mißt die junge Frucht eine Höhe von $130—140\,\mu$, ihr Durchmesser $90—110\,\mu$; es hat also seit der Ascogonentwicklung kein stärkeres Wachstum stattgefunden.

e) Die Reifung der Frucht. Vor dem Wachstum der Asci beginnen sich die Früchte stark auszudehnen; wiederum weniger in die Tiefe, stärker in die Breite, am meisten nach oben. Dementsprechend legen sich unten wenige, seitlich mehr Hyphen des Thallus der Gehäusewand an und verstärken sie. Das stärkste Wachstum aber zeigt sich unmittelbar unter dem Involucrellum in der obersten Zone des Excipulum (Abb. 7g, h und 8c). Das Involucrellum wird gleichsam als harter, kohliger Schild emporgeschoben und preßt oder stanzt die über ihm liegenden absterbenden plektenchymatischen Schichten von $60—80\,\mu$ Mächtigkeit aus dem Thallus heraus; die aus dem Zusammenhang gerissenen Hyphen sterben vollends ab und fallen aus. Auf diese Weise wird das Involu-

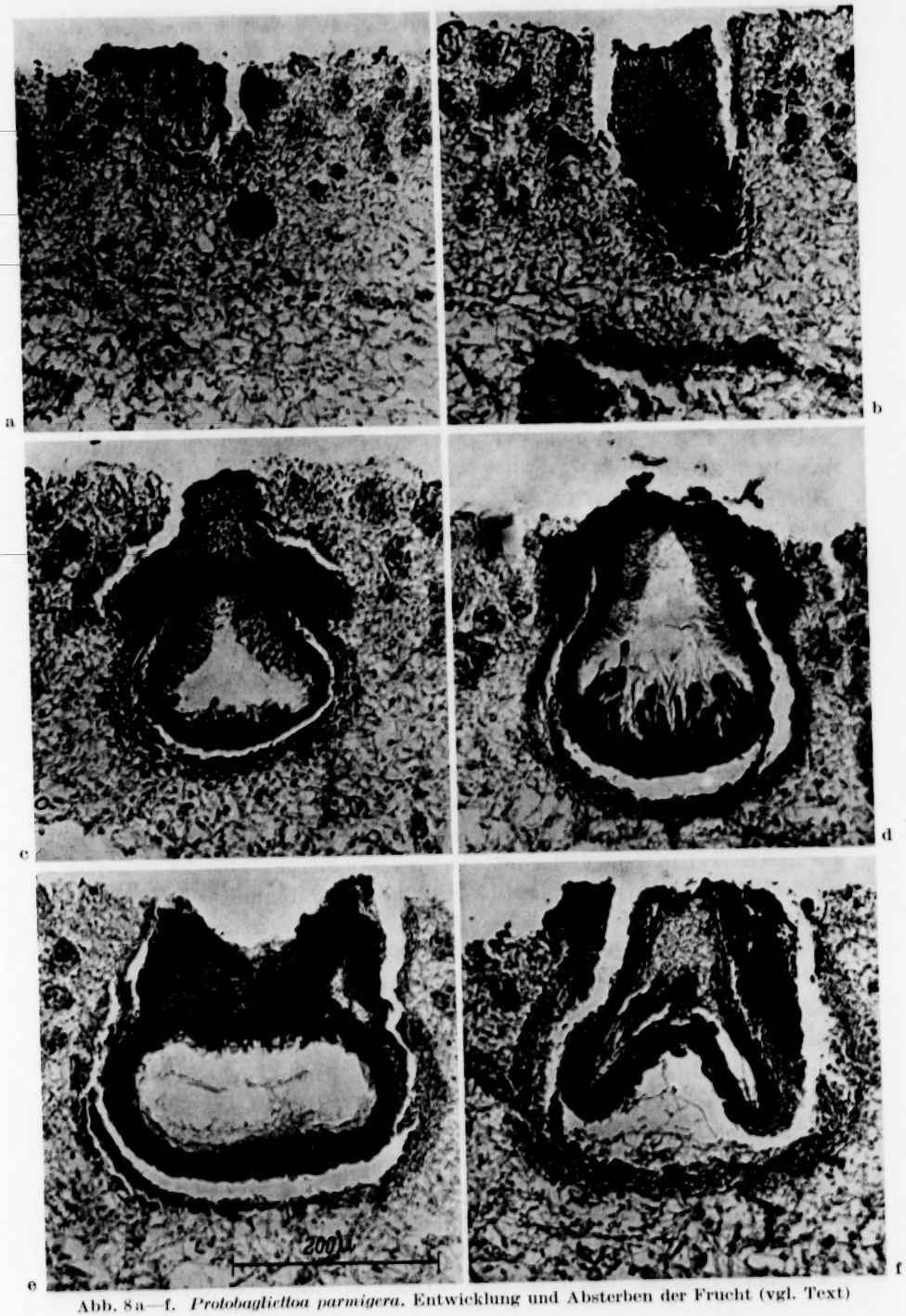


Abb. 8a—f. *Protobagliettoa parmigera*. Entwicklung und Absterben der Frucht (vgl. Text)

crellum bis zur Thallusoberfläche durchgepreßt, wobei sein den Hals der jungen Frucht überragender Rand nach unten zurückgebogen wird und vielfach sternförmig einreißt.

Nun wachsen die Asci heran, zunächst einkernig, bis zu ihrer endgültigen Größe. Kernteilungen und Abgrenzung der Sporen in den Asci scheinen sehr rasch zu verlaufen. Das Material für die vorliegende Studie wurde zu verschiedenen Tages- und Jahreszeiten gesammelt und fixiert, doch fanden sich unter Zehntausenden von Asci nur wenige zweikernige, ein vierkerniger und kein achtkerniger, der nicht schon die Sporenmembranen erkennen ließe.

Während der Sporenbildung differenziert sich auch das Ostiolum: Der zentrale Teil des Involucrellum wird weiter emporgedrückt und bricht allmählich aus. Der Porus bildet sich also durch vertikales Wachstum des Fruchthalses und Ausbrechen des Verschlusses (Abb. 7i, k und 8d). Die bereits sporulierende Frucht wächst noch in die Breite, soweit sie nicht durch das nun kragenförmige Involucrellum beengt ist. Die reife Frucht ist etwa birnförmig und besitzt ein flach aufsitzendes Involucrellum (I. patens, vgl. SERVÍT 1955). Das Hymenium dehnt sich vom Grunde der Frucht allmählich nach den Seitenwänden zu aus und drängt dabei die Periphysen nach oben zurück.

f) Das Absterben der Frucht. Bei alten, meist schon an ihrer Breite erkennbaren Früchten finden sich die Periphysen nur noch in der unmittelbaren Umgebung der Mündung, welche infolge des fortschreitenden Zerfalls des Involucrellum sehr weit sein kann. Wenn das Subhymenium die Ascusbildung eingestellt hat, verquellen oder schwärzen sich teilweise die Zellen des Excipulum; weiterhin verquellen die Periphysen in der Mündung und bilden einen dichten Pfropfen (Abb. 7l, m und 8c). Mißlingt der Verschluß, so dringen bald die dicken braunschwarzen, torulösen Hyphen eines auf dem Thallus regelmäßig, aber kümmerlich wachsenden parasitischen Pilzes ein und füllen die Höhlung mit mastigem Geflecht. Die abgedichteten leeren Früchte aber werden durch wuchernde Flechtenhyphen von den Seiten her zusammengedrückt (Abb. 7n, o und 8f). Sie werden dabei oftmals aus dem Thallus herausgequetscht; häufiger aber bleiben sie zusammengefaltet ganz oder teilweise darin, während die Grube im Kalk von den reichlich wuchernden Hyphen verschlossen wird (Abb. 7p, q und 8a). Von einer Regeneration des Thallus kann nicht gesprochen werden, weil hier die Algen fehlen, selbst dort, wo mehrere Früchte unmittelbar nebeneinander ausgefallen sind. Ich gebrauche stattdessen die Bezeichnung Plombe.

Daß mit der Plombierung die Lebenskraft der Thalli nicht erschöpft ist, läßt sich daran erkennen, daß sich Carpogone oft unmittelbar neben oder unter Plomben finden (Abb. 8a). Daß die Primordien neuer Früchte oft erheblich tiefer liegen als die Böden von alten, beruht auf der

Abtragung, der Thallus und Substrat ausgesetzt sind, und die die Tieferlegung erzwingt. Weiter ist es ein Hinweis auf das hohe Alter, das Flechtenfrüchte erreichen können. Die Bedeutung dieser Erscheinung wird an einem anderen Beispiel (*Verrucaria dufourii*) dargestellt.

2. Typ des *Amphoridium calcisedum* Serv. (Obj. 127). *a) Allgemeines.* Thallus wechselnd dick, um etwa 1 mm messend, voll endolithisch. Die 50—80 μ starke Rinde gliedert sich in eine 20—30 μ messende Epinekralschicht, unter der 20—50 μ lebende Rinde folgt; die Abgrenzung ist hier ziemlich scharf. Die Algenschicht mißt etwa 70—90 μ Dicke. Die Markschicht nimmt nach unten allmählich an Dichte ab. Die Fruchtprimordien finden sich etwa im oberen Teil der Algenschicht, etwa 80—90 μ unter der Oberfläche der Epinekralschicht.

b) Die Entwicklung der Carpogone. Die frühen Stadien der Carpogonentwicklung konnten nicht ausfindig gemacht werden. Die zahlreich aufgefundenen Carpogonknäuel, welche kurz vor der Bildung der Ascogone stehen, zeigen übereinstimmend folgendes Bild (Abb. 9a): Die unteren beiden Drittel der Anlage bilden einen Knäuel von etwa 60 μ Höhe und 40—50 μ Breitendurchmesser; dieser Knäuel entspricht etwa dem desselben Stadiums bei *Protobagliettoa parmigera*, ist jedoch im Aufbau etwas lockerer, und alle Hyphen des Inneren sind ziemlich gleichmäßig (relativ wenig) plasmahaltig. Eine Trennung von vegetativen und generativen Hyphen ist auch nicht andeutungsweise zu erkennen. Die Zellen haben hier eine Größe von etwa 4—8 $\times$ 1,5—3 μ.

Im oberen Drittel der Anlage verlaufen dicht an dicht kurzzellig-weitlumige Hyphen (3—6 $\times$ 2,5—5 μ Zellgröße), welche über der eigentlichen Anlage ein etwa 60 μ breites Geflecht nach Art eines Palisadenplectenchyms bildet (Abb. 9b). Sein oberer Saum schließt etwa mit den lebenden Zellen der Rinde des Thallus ab. Nach unten zu geht es allmählich in die peripheren Teile des Hyphenknäuels über, stellt also nur die stark entwickelte Anlage des oberen Teils des Excipulum dar.

c) Die Entwicklung der Ascogone. Im Lauf der weiteren Entwicklung vergrößert sich die Anlage, die Lücken im Inneren werden größer, und außen legen sich Hyphen des Thallus an. Vor allem aber verbreitert sich das palisadenplectenchymatische Dach auf etwa 80 μ; außerdem wölbt es sich etwas über das Niveau der lebenden Thallusoberfläche vor, bis ein flacher Buckel entsteht, der in der Mitte durch die Scheitelung der Hyphen eine Einsenkung trägt. Dort entwickelt sich später der Porus (Abb. 9c und 10a).

Aus den mehreren plasmareichen Ascogonknäueln, die denen von *Protobagliettoa parmigera* ähneln, dringen Trichogynen nach oben vor, welche ärmer an Protoplasma sind; ihre Zellen werden 2—3 μ dick und bis 12 μ lang. Schließlich ragen die Trichogynen mit einer oft keulig angeschwollenen Endzelle 2—10 μ über die (epinecrale) Rinde hervor. Sie weichen oft bis zu 40° von der Achse der Fruchtanlage ab und erreichen dann die Oberfläche erst gegen den Rand des Palisadenplect-

enchyms. Sofern sie nicht zufällig in der Ebene des Schnittes liegen, sind sie in den Präparaten nur schwer auszumachen. Dennoch konnten mehr als 70 voll entwickelte Trichogynen beobachtet werden. Im Thallus (auch von anderen Proben desselben Entwicklungstyps) finden sich reichlich Pykniden, bei *Amph. sp.* (Obj. 137) meist sogar aus derselben Anlage hervorgehend, doch wurde in keinem Falle ein Spermatium an den Trichogynspitzen gefunden.

d) Die Differenzierung des Fruchtkerns. Auch bei diesem Entwicklungstyp setzt nun das vertikale Wachstum der Fruchtanlage ein; die ohnedies nur dünne epinecrale Rinde über ihr wird abgestoßen (Abb. 9d,e,f). Gleichzeitig setzt die Schwärzung der paraplectenchymatischen Excipulumanlage von oben-seitlich her ein, bis schließlich ein etwa mützenartiges schwarzes Gebilde vorliegt. Der Mündungsteil der Fruchtanlage weicht nur wenig von 80 μ Durchmesser ab; diese ist etwa walzenförmig und erreicht eine Höhe von 130—150 μ. Nur ganz unten finden sich im Gehäuse wenige Zellen, aus denen sich später Subhymenium und Hymenium entwickeln. Das Innere der jungen Frucht hat sich durch Wachstum vergrößert, während sein Inhalt verschleimt ist. In den nun freien Raum wachsen von den Seitenwänden her die Periphysen auf der ganzen Höhe der Frucht. Schließlich wächst der Fruchtboden in die Breite und aus dem Subhymenium sprossen die jungen Asci.

e) Die Reifung der Frucht. Liegt zu Beginn der Ascusentwicklung der Durchmesser der Fruchtanlage bei etwa 80 μ, so wächst derselbe bis zur Reife der ersten Sporen auf etwa 180—200 μ an. Dieses Wachstum beginnt im unteren Teil der Frucht (Abb. 9g), während im Regelfall der Mündungsteil nur wenig, bis etwa 100 μ, sich weitet und dadurch den Porus öffnet. Seltener wächst er gleich stärker in die Breite. Die Schwärzung des Excipulum breitet sich weiter aus (Abb. 9b und 10b).

Allmählich wird der Mündungsteil der Frucht immer weiter, bis er schließlich die Breite des Hymenium erreicht oder gar übertrifft. Hierbei, wie auch schon bei der Öffnung des Ostiolum, scheint ein *tangentiales* Wachstum des Excipulumhalses (im Gegensatz zum *vertikalen* Wachstum bei *Protobagliettoa parmigera*) die ausschlaggebende Rolle zu spielen. Dennoch nimmt dabei die lichte Weite des Porus kaum zu, weil die oberen Periphysen sich nach oben-auswärts richten und dicht aneinanderlegen, wohl auch verkleben (Abb. 9i und 11a). Mit zunehmendem Alter verschleimen und degenerieren diese Mündungsperiphysen, tiefere treten an ihre Stelle, und es bildet sich eine kraterförmige Grube an der Stelle des eigentlichen Ostiolum (Abb. 9k und 11b). Bei besonders alten, aber noch sporulierenden Perithecien können endlich alle Periphysen verschleimt sein. Bei oberflächlicher Betrachtung scheint ein eingesenktes, krugförmiges Apothecium vorzuliegen. Funktionsfähige Früchte dieses Alters sind jedoch äußerst selten.

f) Das Absterben der Frucht. Das Absterben setzt meist dann ein, wenn die letzten Periphysen an der Mündung verschleimen und damit das Thecium den parasitierenden Hyphen schutzlos preisgeben. Allenfalls

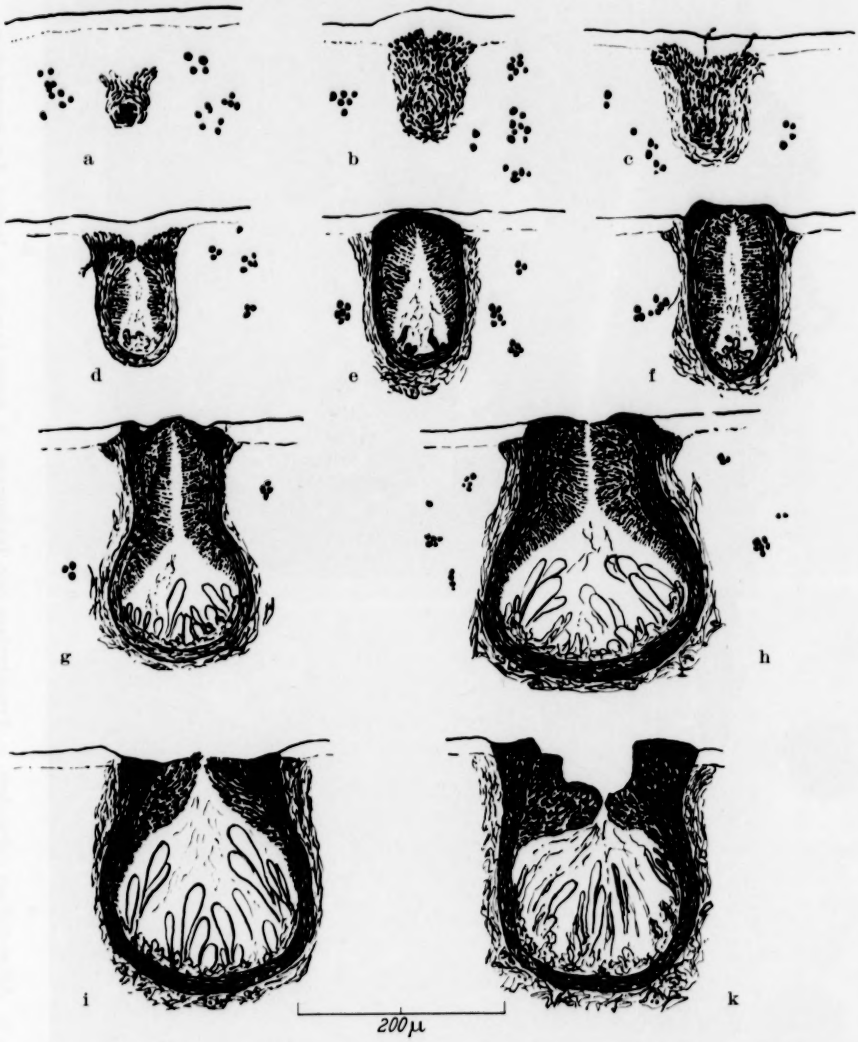


Abb. 9a—k. *Amphoridium calcisedum.* Entwicklung der Frucht (vgl. Text)

noch gebildete Asci produzieren keine Sporen mehr, sondern zerfließen; das Gehäuse entleert sich und beginnt zu verquellen. Auch hier wird es mitunter von den Seiten her durch Thallushyphen zusammengefaltet. Das weitere Schicksal der abgestorbenen Früchte konnte an unserem Material nicht mehr verfolgt werden; Plomben wurden nicht gefunden.

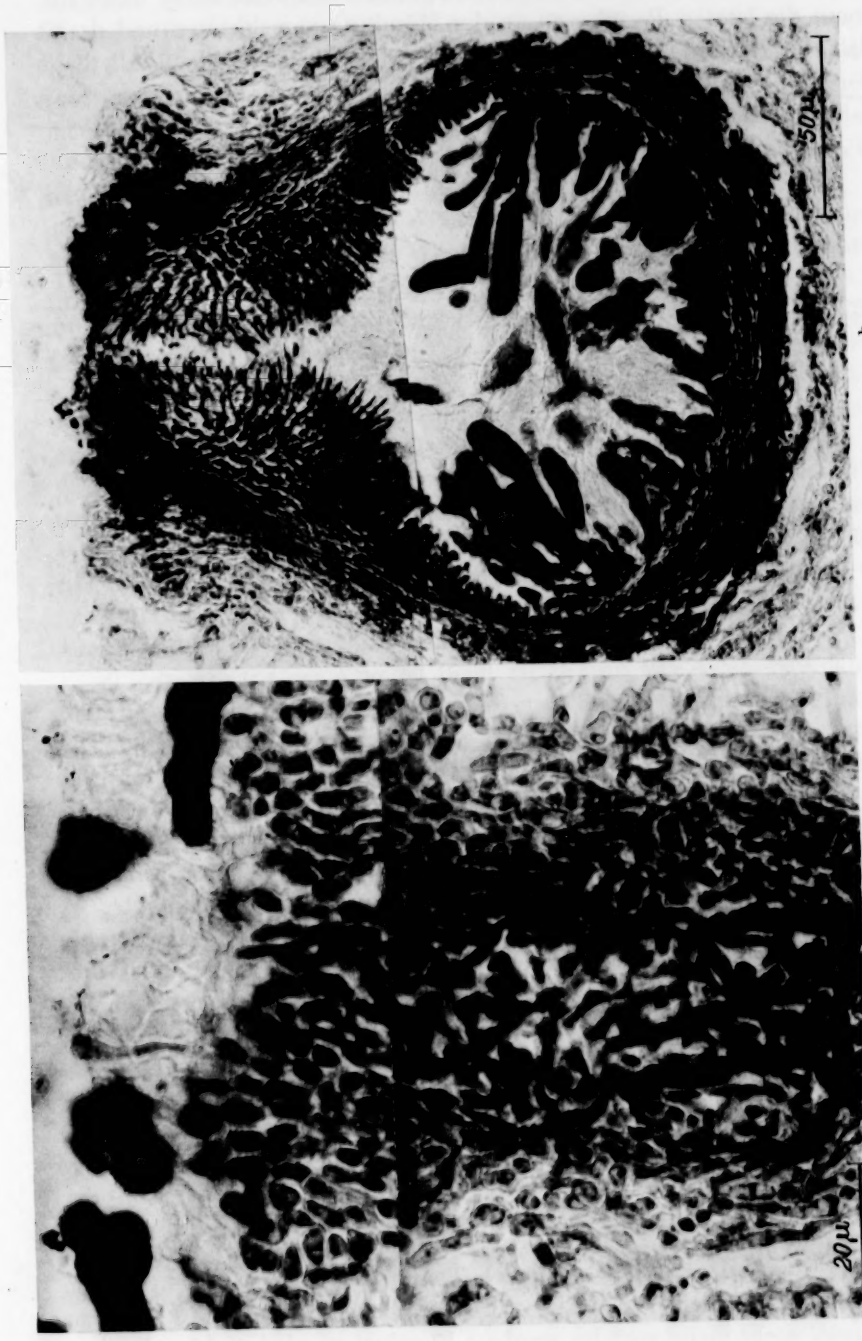
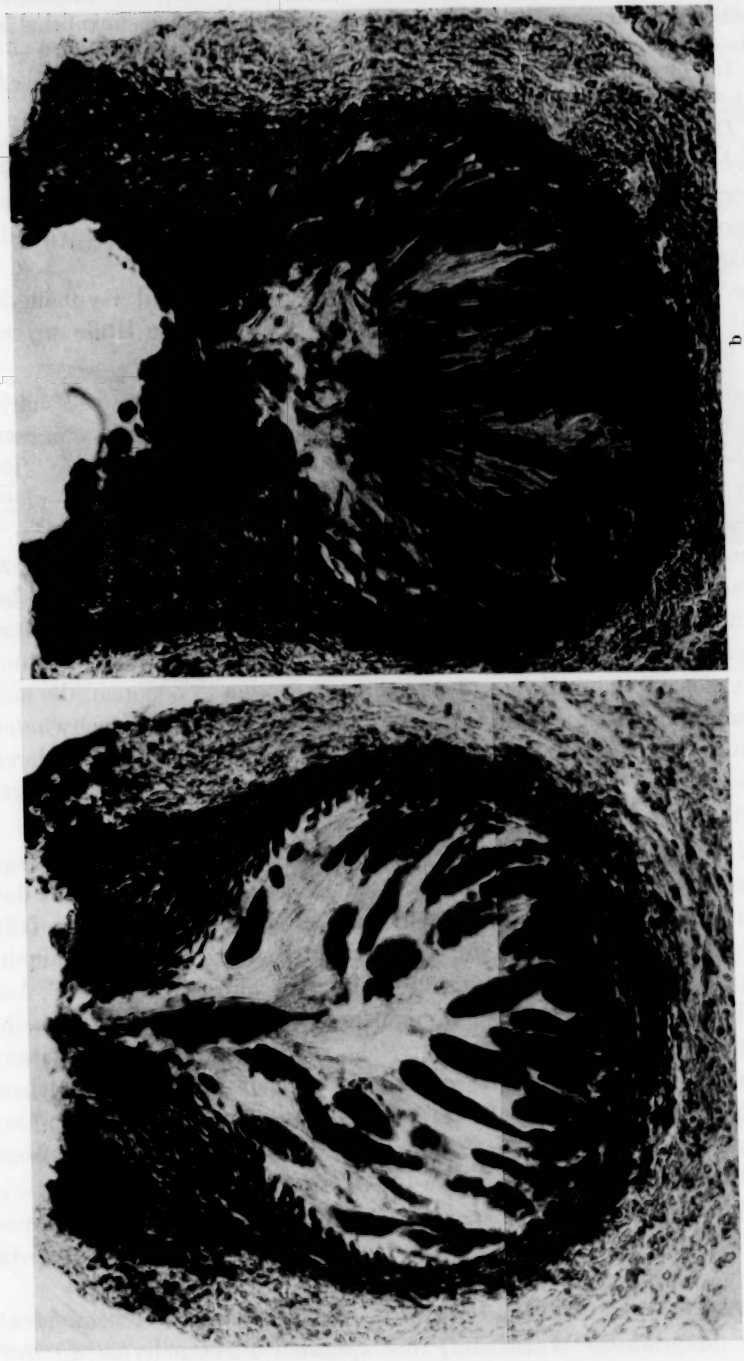


Abb. 10a u. b. *Amphoridium calcisedum*. a Fruchtanlage mit Trichogyne; b junge Frucht zu Beginn der Sporulation



b

a

Abb. 11a u. b. *Amphoridium calcisedum*. a Frucht in optimaler Entwicklung; b alte Frucht kurz vor dem Absterben

3. Typ des *Thelidium immersum* Mudd. (Obj. 123). *a) Allgemeines.* Thallusdicke bei unserer Probe 0,3—0,9 mm. Rindenschicht ungewöhnlich dünn, etwa 5—20 μ (Schattenflechte); Algenschicht sehr ungleichmäßig, meist 50—70 μ stark. Im oberen Teil der Algenschicht, also fast an der Thallusoberfläche, beginnt die Entwicklung der Früchte.

b) Die Entwicklung der Carpogone. Das Carpogon läßt sich erkennen als mehr oder weniger kugelige Anhäufung plasmareicher, etwa isodiametrischer Zellen zwischen den Algen einer Algengruppe oder zwischen Algengruppen. Das Zentrum liegt dabei meist nur 30—35 μ von der Oberfläche entfernt (Abb. 12a).

Der dichte Knäuel wächst heran, schiebt Algen und Hyphen des Thallus auseinander und legt eine zwei- bis dreischichtige Hülle an, mit der er bis zur Thallusoberfläche vordringt (Abb. 12b).

c) Die Entwicklung der Ascogone. Das dergestalt angelegte Gehäuse wächst heran zu einer Höhe von rund 100 μ und einem Querdurchmesser von 60—80 μ; seine Wand wird meist fünf- bis siebenschichtig. Die Gestalt der Hülle ist krugförmig und schließt oben mit einem plectenchymatischen Komplex ab.

Einzelne Lagen des oberen Gehäuseteils beginnen sich bereits zu schwärzen, während sich das bislang dichte Innere auflockert. Es besteht nun aus einem lockeren Netzwerk verzweigter, offensichtlich anatomosierender Hyphen (Zellen plasmaarm, 3—6 $\times$ 1 μ) und aus einzelnen Nestern plasmareicher Zellen (3—5 $\times$ 2,5—5 μ), den Ascogonen, die sich in plasmaarme Trichogynen fortsetzen. Die Trichogynen verschwinden im Plectenchym des Mündungsteils der Fruchtanlage, überschreiten deren Oberfläche aber nicht. Ihre nähere Untersuchung ist somit äußerst schwierig (Abb. 12c).

d) Die Differenzierung des Fruchtkerns. Während die Fruchtanlage weiter ziemlich gleichmäßig an Höhe und Breite zunimmt, zerfließt das Netzwerk im Inneren, das wohl als Gesamtheit der Paraphysen aufgefaßt werden darf. In den rasch an Größe zunehmenden Hohlraum hinein sprossen die Periphysen und erfüllen ihn fast ganz (Abb. 12d). Am Grund bildet sich ein Subhymenium heran, das sich üppig entwickelt; es dringt zwischen die Periphysen, welche wegen des kräftigen Breitenwachstums der jungen Frucht wie vor einem Keil auseinanderweichen (Abb. 12e). Es bilden sich zahlreiche kleine Asci, die allerdings teilweise wieder zerfallen. In diesem Stadium ist die junge Frucht auf über 200 μ Höhe und 150—180 μ Breite herangewachsen (Abb. 12f).

e) Die Reifung der Frucht. Die Reifungsphase des Peritheciums beginnt mit der Bildung der Sporen in den Asci. Bei diesem Objekt wurde der einzige vierkernige Ascus gefunden.

Die Frucht erhält ihre Mündung durch einfaches radiales Auseinanderweichen (*tangentiales* Wachstum) des apikalen Plectenchyms an der

entsprechenden Stelle unter weiterer Verdickung und Bräunung der Gehäusewand. Auch die übrigen Teile der Frucht nehmen an Ausdehnung zu, bis das Excipulum schließlich eine Höhe von 320—400 μ und eine Breite von 320—450 μ erhält (Abb. 12g).

f) Das Absterben der Frucht. Das Altern setzt auch hier ein mit dem Verquellen von Periphysen und Hymenium. Häufig entsteht eine struk-

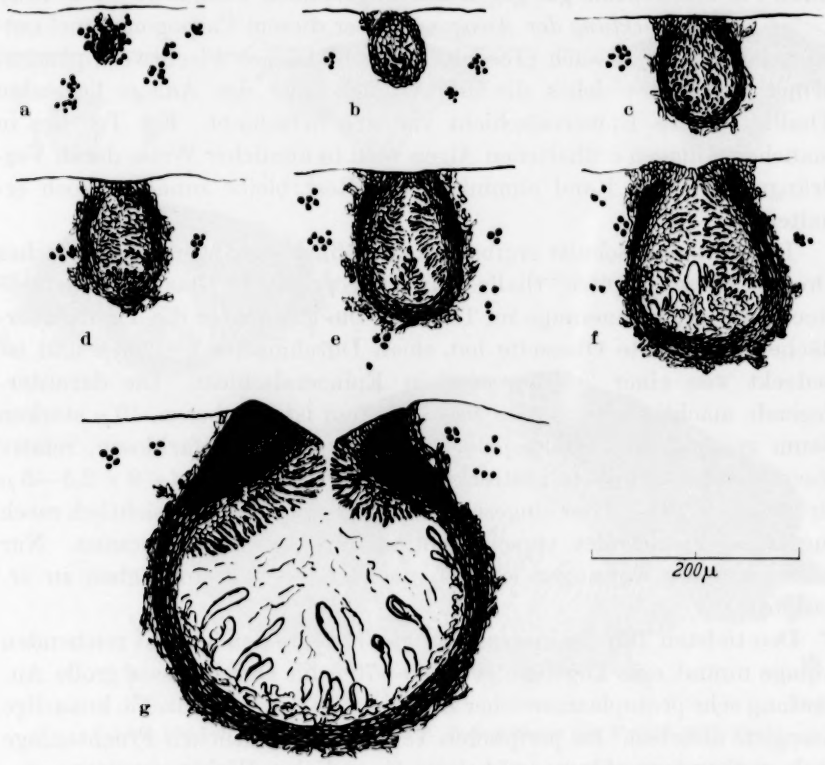


Abb. 12a—g. *Thelidium immersum.* Entwicklung der Frucht (vgl. Text)

turlose Masse, welche die ganze Frucht ausfüllt; meist aber bleibt ein krugförmiger Hohlraum, der umschlossen ist vom nun ganz kohlig gewordenen Gehäuse. Dieses fällt ganz oder in Teilen aus und hinterläßt eine grubige Vertiefung im Stein. Diese Vertiefung ist allerdings nicht so tief, wie es die Höhe der voll entwickelten eingesenkten Frucht erwarten ließe, weil diese im Laufe ihrer langen Entwicklung aus dem Substrat und damit aus dem Thallus etwas herausgewittert ist. Vergl. hierzu die folgende Art!

4. Typ der *Verrucaria dufourii* DC. (Obj. 11). *a) Allgemeines.* Thallus 0,5 bis 1,0 mm dick, voll endolithisch. Rindenschicht etwa 40—70 μ stark; sie stirbt nach oben zu allmählich ab. Unter ihr folgt eine 80—120 μ mächtige Algenzone.

Etwa in ihrer unteren Hälfte, meist in 90—110 μ Tiefe, entwickeln sich die Fruchtprimordien.

b) Die Entwicklung der Carpogone. Die jüngsten erkennbaren Anlagen bestehen aus Knäueln isodiametrischer Zellen von etwa 3 μ Durchmesser zwischen den Algengruppen. Sie schließen häufig auch Algen ein. Diese Knäuel schwellen auf 50 μ Höhe und 70 μ Breite an. Sie heben sich durch ihren Plasmareichtum gut gegen den umgebenden Thallus ab (Abb. 13a).

c) Die Entwicklung der Ascogone. Über diesem Carpogonknäuel entwickelt sich ein schwach prosoplectenchymatisches Flechtwerk plasmaarmer Hyphen, welches die ursprünglich über der Anlage liegenden Thallusteile als Epinecralschicht vor sich herschiebt. Ein Teil der in manchen Anlagen enthaltenen Algen wird in ähnlicher Weise durch Verdrängung an den Rand eliminiert, der Rest bleibt zunächst noch erhalten.

Im medianen Schnitt ergibt sich schließlich ein abgerundetes flaches Dreieck, dessen „Spitze" thalluseinwärts gerichtet ist; das ganze Gebilde steckt wie ein Hühnerauge im Thallus. Die leicht über die Thallusoberfläche vorgewölbte Oberseite hat einen Durchmesser bis 200 μ und ist bedeckt von einer 7—15 μ starken Epinecralschicht. Die darunterliegende mächtige Anlage des Involucrellum ist im oberen, 10 μ starken Saum geschwärzt, besteht jedoch im Hauptteil aus farblosen, relativ plasmaarmen, schwach gestreckten Zellen von etwa 4—8 $\times$ 2,5—5 μ Größe (Abb. 13b). Hier eingeschlossene Algen gehen offensichtlich rasch zugrunde; man findet verschiedentlich ihre leeren Membranen. Nur ganz am Rand vermögen sie sich noch einige Zeit am Leben zu erhalten.

Den tiefsten Teil der insgesamt 100—120 μ in den Thallus reichenden Anlage nimmt eine kugelige, etwa 50—70 μ im Durchmesser große Anhäufung sehr protoplasmareicher Zellen ein, in der sich einzelne knäuelige Ascogone abheben. Im peripheren Teil dieser eigentlichen Fruchtanlage noch vorhandene Algen erscheinen in radialer Richtung zusammengedrückt, in tangentialer aber gedehnt; sie werden offensichtlich durch das Wachstum der Anlage passiv mitverformt. Schließlich verschwinden sie ganz. Leere Algenmembranen konnten nicht sicher nachgewiesen werden.

Aus den Ascogonen wachsen durch die darüberliegenden, als Involucrellumanlage zu deutenden Schichten schlanke Trichogynen bis knapp über die Oberfläche der Epinecralschicht empor (Abb. 13c und 14). An keiner der knapp hundert beobachteten Trichogynspitzen konnte mit Sicherheit ein Spermatium beobachtet werden, obgleich der Thallus reichlich Pykniden führt.

d) Die Differenzierung des Fruchtkerns. Die Entwicklung des Hymenium konnte leider nicht an einer lückenlosen Reihe verfolgt werden.

Die ganze Anlage wächst nicht wesentlich in die Tiefe, sondern in die Breite und Höhe. Dadurch ragt sie immer mehr aus der Thallusoberfläche hervor und verliert ihre Epinecralschicht (Abb. 13d). Das junge Involucrellum wird allmählich bis zum Excipulum schwarz.

e) Die Reifung der Frucht. Die junge Frucht überragt den Thallus schließlich um etwa 200 μ und besitzt einschließlich Involucrellum

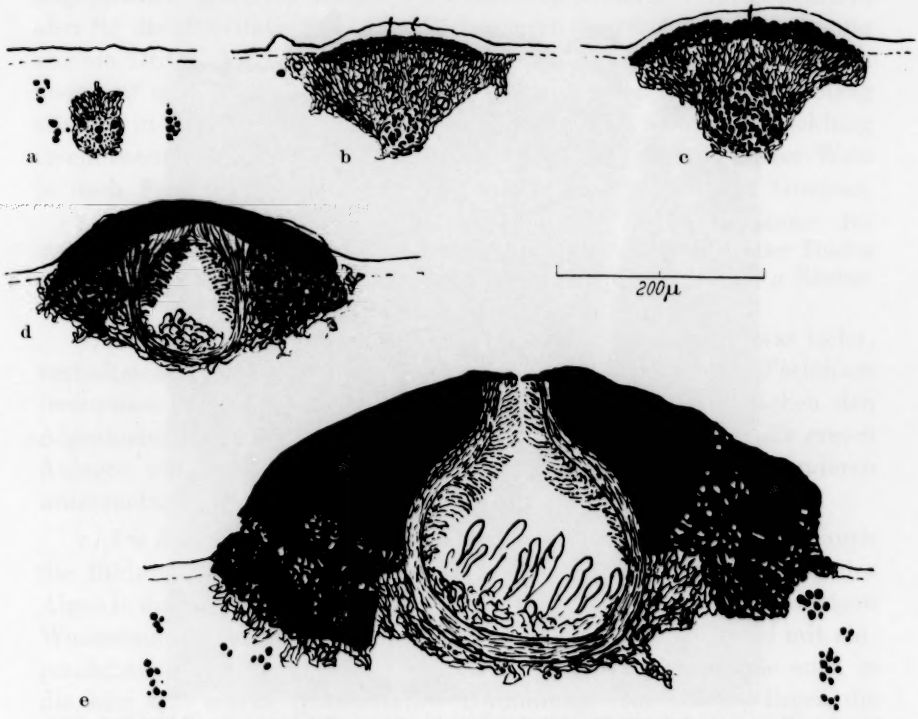


Abb. 13a—e. *Verrucaria dufourii.* Entwicklung der Frucht (vgl. Text)

einen Durchmesser von rund 600 μ. Der Innendurchmesser des Excipulum liegt bei 200—250 μ, die Gesamthöhe der Frucht vom Boden einschließlich Hypothecium bis zum Ostiolum bei 250—270 μ (Abb. 13e).

Die Sporenbildung verläuft wie bei den geschilderten Arten. Im Laufe der weiteren Entwicklung kommt es auch hier zu einer Erweiterung der Mündung durch tangentiales Wachstum des Gehäusehalses, wobei auswärtsgewendete, anscheinend verklebte Periphysen die Weite des Porus annähernd konstant halten.

f) Das Absterben der Frucht. Das Altern der Frucht zeigt sich auch hier an durch häufige Degeneration der Asci, Verquellung der Periphysen und schließlich auch des Hymenium. Es fällt dabei auf, daß die alten Früchte dem Thallus meist nur aufsitzen, selten schwach eingesenkt

sind, ja, daß manche sogar bereits an der Basis höher liegen als das allgemeine Niveau der Rindenoberfläche. Diese Erscheinung, die sich mit gewissen Unterschieden auch bei anderen Arten findet, spricht für ein hohes Alter der absterbenden Frucht. Sie leistet augenscheinlich der Verwitterung stärkeren Widerstand als das Substrat mit dem Thallus.

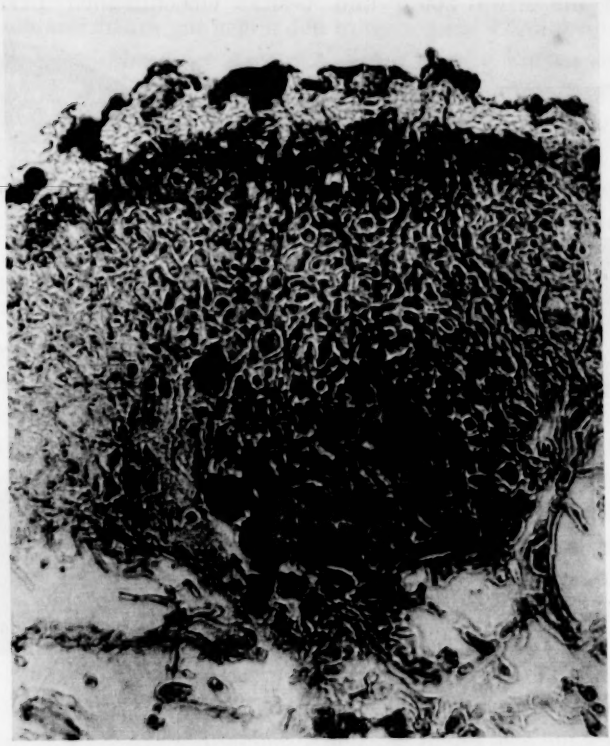


Abb. 14. *Verrucaria dufourii*. Fruchtanlage mit Ascogonen, Trichogynen und Involucrellum

Weiter ist daraus zu schließen, daß auch die obersten Thallusschichten sich in das ursprüngliche Substrat eingebohrt haben. Wäre der Kalk, in welchem sie liegen, ein Abscheidungsprodukt der Hyphen, müßten die Früchte eher vom Thallus überwachsen werden.

Ein besonderer Verschluß der entleerten Frucht wurde nicht beobachtet. Das Involucrellum und die Reste des Excipulum zerfallen; es bleibt keine Vertiefung im Substrat zurück. Der einzige Hinweis auf das frühere Vorhandensein einer Frucht ist das (zeitweilige ?) Fehlen von Algen in einem Thallusfleck.

Bei dem langsamen Wachstum der Flechten und ihrer Früchte darf es nicht wundernehmen, daß die oberflächliche Auflösung des Substrats sich bei den endocalcinen Flechten im anatomischen Befund bemerkbar

macht. WAGNER (1950, S. 38) gibt den jährlichen Verlust des Weißjuras der württembergischen Alb durch Lösung mit ungefähr 100000 m³ Kalk an, was einer flächenhaften Abtragung von etwa 1/70 mm pro Jahr entspreche; die Hauptauflösung finde zwar nicht auf der freien Oberfläche, sondern auf Spalten und in Höhlen statt. Der flechtendurchsetzte Kalk ist aber der Lösung in erhöhtem Maße ausgesetzt. Wenn wir den angegebenen Wert für unsere Durchschnittsstandorte verallgemeinern, aber für die offen daliegende Oberfläche wegen der raschen Austrocknung nur ein Drittel des Lösungswertes annehmen, so kommen wir immerhin noch auf eine jährliche Thallusabtragung von etwa 5 μ; dieser Betrag stimmt in der Größenordnung mit dem aus der Thallusentwicklung erschlossenen Betrag überein. Selbstverständlich schwankt dieser Wert je nach Flechte, Substrat und Mikroklima innerhalb weiter Grenzen.

5. Typ des *Staurothele meylanii* B. d. Lesd. (Obj. 74). *a) Allgemeines.* Bei dieser Art interessiert besonders die Bildung der Hymenialgonidien. Der Thallus ist bei unserer Probe meist nur 0,3—0,4 mm dick, dünnrindig (10—30 μ Rindenstärke), er besitzt jedoch eine bis 100 μ starke Algenschicht.

b) Die Entwicklung des Carpogons. Die Carpogone liegen etwas tiefer, verhalten sich in Bau und Entwicklung aber durchaus wie bei *Thelidium immersum*: Auch hier entstehen die Primordien in oder zwischen den Algenknäueln des Thallus (Abb. 15a). Es fällt auf, daß schon die ersten Anlagen wie auch die späteren Stadien in allen Teilen die der anderen untersuchten Arten an Größe übertreffen.

c) Die Entwicklung der Ascogone. Dem genannten Typ entspricht auch die Bildung der Ascogone. Verschieden ist nur die Einbeziehung der Algen in den Gang der Fruchtentwicklung (Abb. 15b). Bei dem kräftigen Wachstum der Anlage werden zahlreiche Algen in den Knäuel mit eingeschlossen, und zwar sowohl ins ascogonbildende Innere, wie auch in die hier sehr starke (plasmaarme) Umhüllung. Im Thallus liegen die Algen gruppenweise und besitzen einen Durchmesser des Protoplasten von meist 6—10 μ. Im lockeren Netzwerk (der Paraphysen ?) über den Ascogonen liegen sie einzeln und weisen einen mit zunehmendem Alter der Anlage immer kleineren Durchmesser auf, zur Zeit der Optimalentwicklung der Ascogone noch etwa 3—5 μ. Die in der Umhüllung eingeschlossenen Algen sind deutlich größer, noch kugelig, mit einem Durchmesser von 4—7 μ.

d) Die Differenzierung des Fruchtkernes. Auch hier besteht kein nennenswerter Unterschied zu *Thelidium immersum*, wenn man von der mächtigen Entwicklung der Gehäusewand absieht. Zu Beginn der Hymeniumentwicklung, wenn sich der Hohlraum durch Verschleimen des Inhalts und Wachstum der Wand bildet, erreicht der Durchmesser der Hymenialgonidien den endgültigen Durchmesser von 3—4 μ. Die in die Gehäusewand eingeschlossenen Algen verschwinden ziemlich rasch: Sie

werden flachgedrückt, verlieren ihren relativ hohen Plasmagehalt und werden so in der Umgebung unkenntlich (Abb. 15c).

e) Die Reifung der Frucht. Wachstum der Frucht, Bildung des Thecium und Öffnung der Mündung verlaufen ganz wie im genannten Fall. Bei der Reife hat die Frucht einen Durchmesser von 350—500 μ,

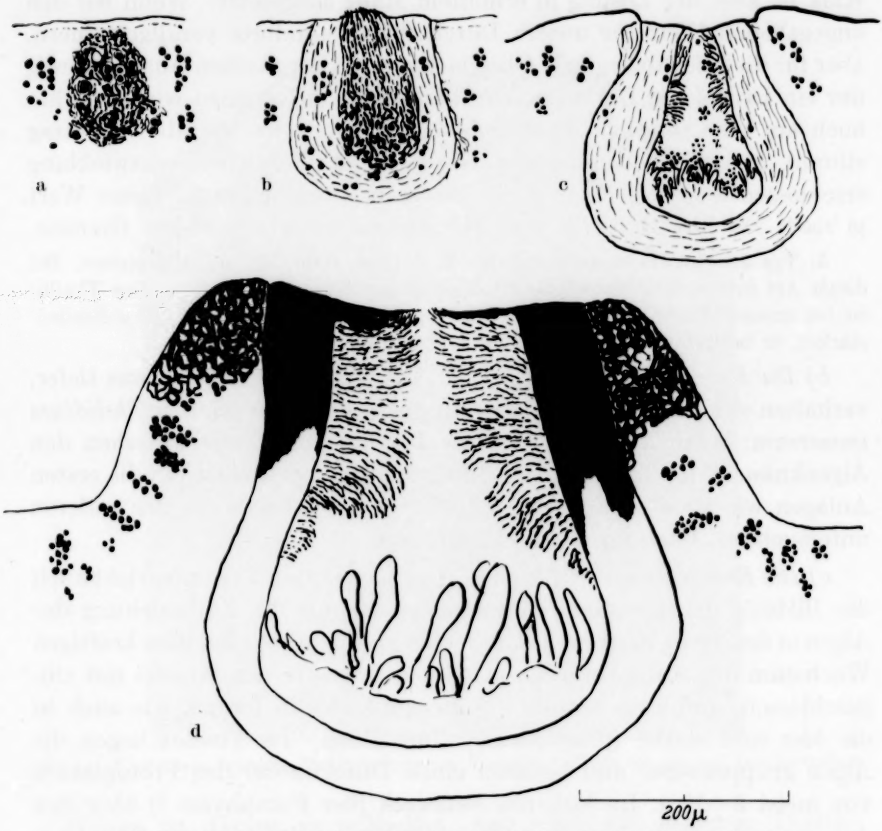


Abb. 15a—d. *Staurothele meylanii.* Entwicklung der Frucht (vgl. Text)

eine Höhe von 400—650 μ, fällt also durch ihre Größe auf (Abb. 15d). In der Region des Hymenium und des unteren Teils der Periphysen weisen die Hymenialgonidien einen Durchmesser von 3—4 μ auf. In der Nähe der Mündung aber finden sich auch zwischen den Periphysen gelegentlich einzelne größere Algenzellen, welche freilich den Durchmesser der Thallusalgen nicht erreichen. Vielleicht darf daraus geschlossen werden, daß der Anreiz zur Verkleinerung und damit zur Bildung der Hymenialgonidien von den Ascogonen bzw. vom Hymenium ausgeht, vielleicht auch daß die Thallusalgen in der Hyphenumklammerung zu verstärktem Größenwachstum angeregt werden.

Je nach der Art des Substrats sehen die Früchte recht verschieden aus. Vgl. hierzu Abschnitt f des folgenden Kapitels!

f) Das Absterben der Frucht. Der Alterungsvorgang beginnt mit der Schwärzung des Gehäuses, das bei jungen Früchten nur teilweise und in einer dünnen Schicht gefärbt ist. Das Absterben und Ausbrechen der Staurothelefrüchte scheint ziemlich rasch zu erfolgen; da diese Probe nur wenig über der Mittelwasserlinie des Lechs in einem schluchtartigen Tal mit großem Gefälle gesammelt worden ist, nimmt das rasche Verschwinden nicht weiter wunder. An der Stelle der wohl vom Hochwasser erodierten Früchte bleiben Gruben im Thallus, in denen sich oft Hunderte von Sporen und wohl Tausende von Hymenialgonidien ansammeln. Keimende Sporen wurden dabei nicht beobachtet, dagegen finden sich häufig Hymenialgonidien in Teilung.

Bei der stark abschleifenden Wirkung dürften Hochwässer die Gruben bald zum Verschwinden bringen.

III. Variation der Frucht

1. Lage zum Thallus. Bei der Mehrzahl der untersuchten Flechten bleibt die Lage der reifen Frucht innerhalb des Thallus in etwa so, wie es der Entwicklung aus der Anlage entspricht. Stärkere Unterschiede in diesem Punkt fallen bei großfrüchtigen Verrucarien mit kräftigem Involucrellum auf; sie sind altersbedingt (Abschn. f).

2. Variabilität des Excipulum. Variationen der *Fruchtform* lassen sich, soweit nicht Mißbildungen vorliegen, zum größten Teil auf Altersunterschiede zurückführen. Weitaus geringer sind die Unterschiede zwischen etwa gleichaltrigen Früchten (Abb. 16).

Die *Stärke der Fruchtwand* (das Excipulum) schwankt innerhalb ziemlich enger Grenzen; bei *Protobagliettoa parmigera* ist sie unten 8—12 Zellschichten (15—20 μ) dick. Dabei ist die Abgrenzung gegen das Subhymenium nicht scharf. Die Hyphen, welche zum Thallus gehören, der Frucht jedoch unmittelbar anliegen, heben sich durch Form, Anordnung und Färbbarkeit der Zellen gut ab.

Die *Schwärzung des Excipulum* tritt bei vielen Arten als Alterserscheinung der Früchte auf, bei anderen gehört sie zum normalen Entwicklungsgang und tritt schon früh, mitunter lange vor der Sporulation ein.

3. Variabilität des Ostiolum. Der Mündungsteil ändert sich in Gestalt, Weite und Färbung in besonders starkem Maße, doch sind diese Änderungen außerordentlich bezeichnend für das relative Alter der Perithecien.

Bei *Thelidium immersum* und *Amphoridium calcisedum* erweitert sich allmählich der Durchmesser des Gehäusehalses, anscheinend durch

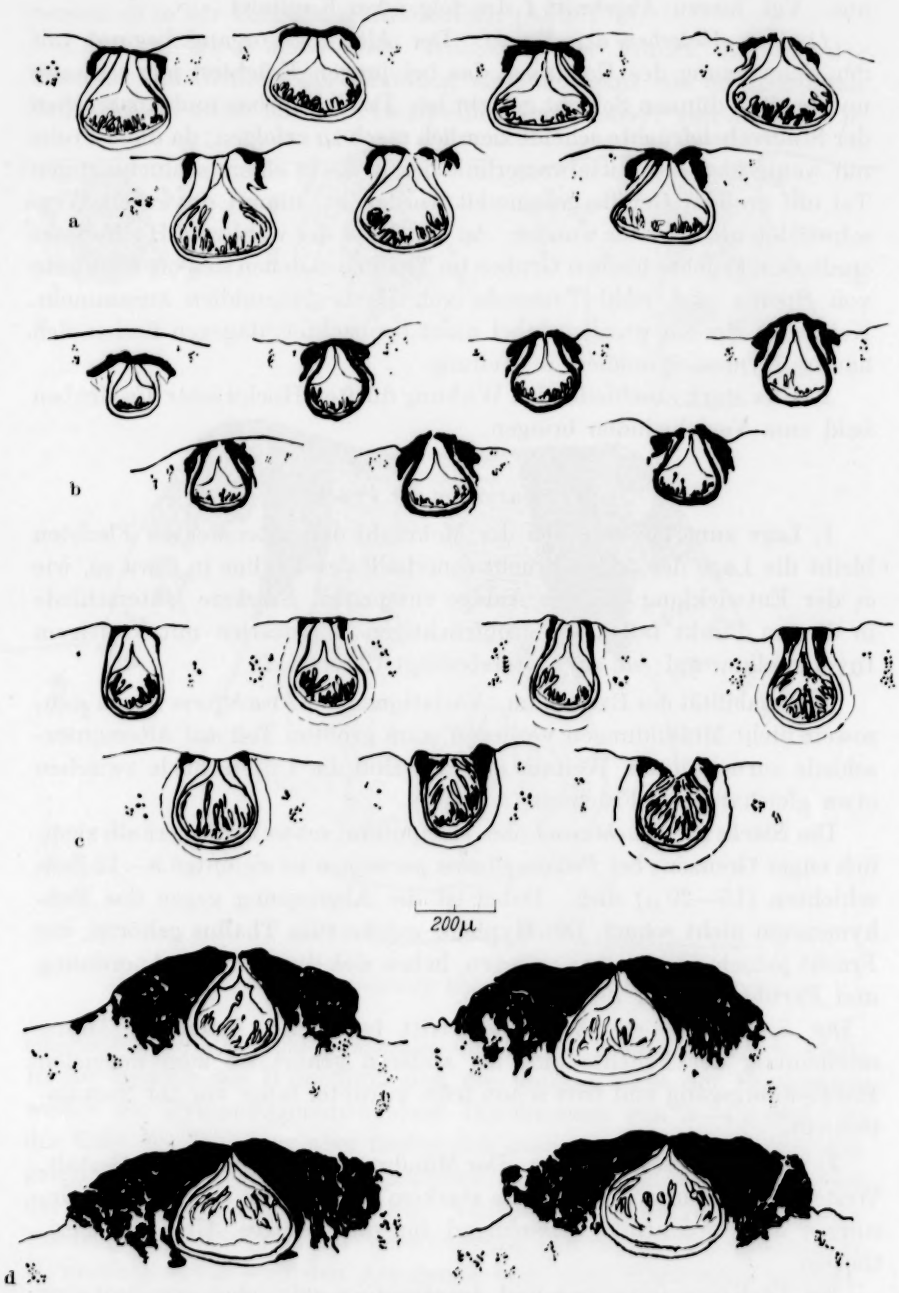


Abb. 16a—d. Variation von Früchten etwa gleichen Alters. a und b *Protobagliettoa*, c *Amphoridium*, d *Verrucaria*

tangentiales Wachstum, wobei durch Periphysen der Porus weiterhin eng gehalten wird. Vor allem bei alten und großen Früchten kann der Hals von oben her abgetragen werden und daher verkürzt erscheinen. Bei *Verrucaria dufourii* und *Protobagliettoa parmigera* bleibt im allgemeinen die Weite der Mündung konstant, weil sie durch das Involucrellum geschützt ist, und die Öffnung der Frucht durch vertikales Wachstum erreicht wird.

Je nach den Umweltsverhältnissen und sonstigen Gegebenheiten kann das Ostiolum aus der Thallusoberfläche hervorragen, mit ihr in gleicher Ebene liegen oder eingesenkt sein.

4. Variabilität der Periphysen. Auch die Periphysen erfahren im Lauf der Perithecienentwicklung ein wechselvolles Schicksal. Bei jungen Früchten bedecken sie vor der Differenzierung des Hymenium bis über drei Viertel der inneren Oberfläche des Excipulum; sie sind hier kurz, wenigzellig und gegen die Spitze zu verschmälert. Mit fortschreitender Entwicklung wird der Anteil der von Periphysen bedeckten Fläche durch Vergrößerung des Hymeniumanteils geringer, er sinkt unter die Hälfte. Kurz nach Beginn der Sporulation mag die optimale Entwicklung in bezug auf Menge und Länge der Periphysen erreicht sein. Bei alten Früchten, vor allem bei denen, deren Mündung nicht durch ein Involucrellum geschützt ist, werden die Periphysen teils von oben her erodiert, zum anderen Teil für die Schließung des zu stark erweiterten Porus verbraucht. Hier sinkt ihr Anteil weiter und erreicht in manchen Fällen durch vollständige Verquellung den Wert Null. Dennoch eignen sich Form und Abmessung der Periphysen für taxonomische Zwecke, wenn nur darauf geachtet wird, daß die Untersuchung an den zahlenmäßig meist weitaus überwiegenden Früchten der optimalen Entwicklungsphase vorgenommen wird.

5. Variabilität des Involucrellum. Im Normalfall variiert das Involucrellum nur wenig, seine dichte und oft kohlige Beschaffenheit machen es gegen Abtragung ziemlich widerstandsfähig. Lage und Ausdehnung sind bei nicht zu alten Perithecien überaus einheitlich, zumal dort, wo das Involucrellum groß, breit und oberflächennah angelegt wird und deshalb vor den Fährnissen (Verbiegung und Einreißen) einer vertikalen Verschiebung bewahrt bleibt. Unter den nachfolgend angeführten Bedingungen kann es jedoch zu einer scheinbar exzessiven Variation kommen.

6. Vorherrschen bestimmter Altersstufen. Es fällt bei allen Schnittserien auf, daß die einzelnen Entwicklungsstadien nicht in etwa gleicher Häufigkeit vorkommen, sondern daß bestimmte Stadien massenhaft erscheinen, andere dagegen ganz oder fast ganz fehlen. Ein Beispiel dieser Art gibt uns *Protobagliettoa sp.* (Obj. 120), die *Pr. parmigera* nahesteht.

Der Thallus weist sehr zahlreich Früchte auf, die fast ausschließlich zu zwei ganz eng umschriebenen Stadien gehören. Das jüngere ist in der optimalen Phase kurz nach Beginn der Sporulation (Abb. 17a—m). Oft hebt sich das Ostiolum weit über die Thallusoberseite empor; dies ist

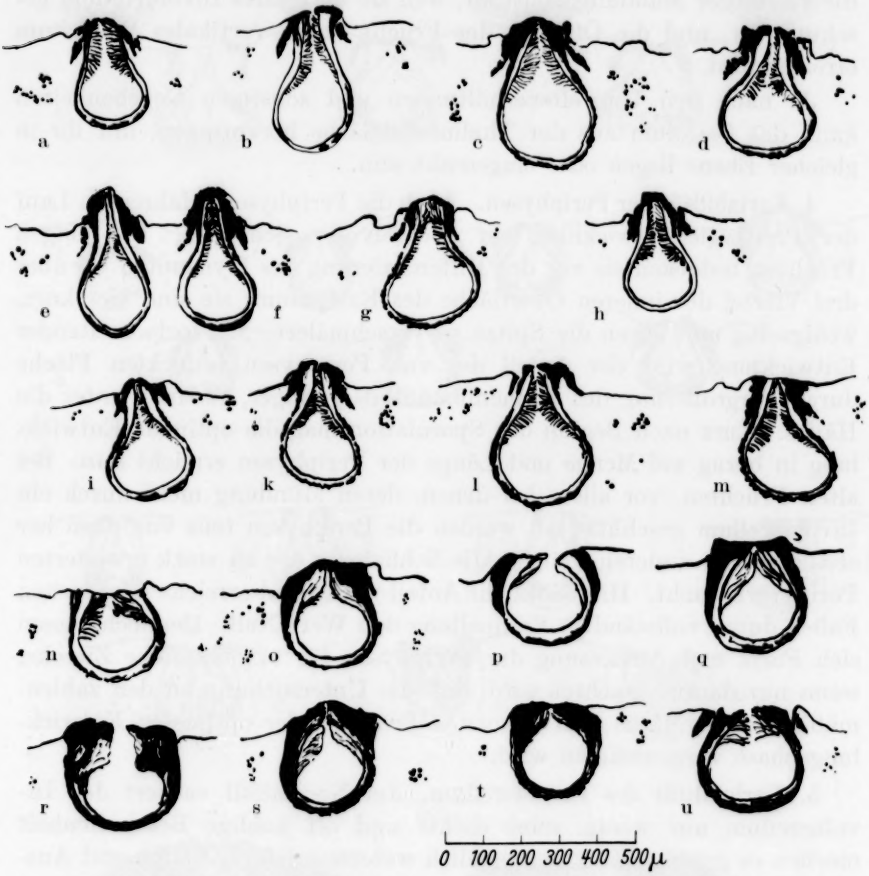


Abb. 17a—u. *Protobagliettoa sp.* a—m jüngere, n—u ältere Früchte

auf das vertikale Wachstum des Fruchthalses zurückzuführen, also ein Jugendmerkmal. Das ältere, nicht so häufige Stadium zeigt die Früchte kurz vor dem Ende der Sporenbildung oder während des Absterbens; immerhin enthält ein Teil der Früchte noch Sporen. Diese Früchte stehen nicht mehr über die Thallusoberfläche hervor, sie besitzen auch keinen langen Halsteil mehr, die Periphysen sind zum größten Teil degeneriert und das Involucrellum (patens), das bei der jungen Frucht klein, aber deutlich entwickelt ist, ist hier meist völlig verschwunden (Abb. 17n—u). Bestimmer, die nur eine oder wenige Früchte unter-

suchen, können u. U. zu verschiedenen Ergebnissen kommen, weil sie die recht verschieden gestalteten Früchte jeweils für „die Frucht" schlechthin halten.

Wäre der zeitliche Abstand dieser beiden Fruktifikationsphasen noch größer, würde man nur einen sporulierenden Fruchttyp antreffen. Wird von einem solchen Thallus eine Probe zu Beginn, eine andere gegen Ende der Sporulation gesammelt, so findet der Untersucher innerhalb jedes Belegs eine geringe Variation, zwischen beiden aber deutliche Unterschiede. Im Extremfall könnten demnach Teile eines Individuums als verschiedene Taxa aufgefaßt oder gar beschrieben werden. Es ist daher nötig, in allen Fällen die Optimalphase der Entwicklung zu studieren und der Bestimmung (oder Beschreibung) zugrunde zu legen.

Das fast regelmäßige Vorherrschen bestimmter Lebensalter legt die Frage nach dem *Rhythmus* nahe, in welchem die Fruchtbildung stattfindet. Es ist bereits dargestellt worden, daß Flechtenfrüchte offensichtlich ein hohes Alter erreichen. Treten also derart stark voneinander geschiedene Fruchtgenerationen auf, so ist anzunehmen, daß es nicht alljährlich (mindest nicht in diesem Fall) zu einer Fruchtbildung kommt.

Eine jahreszeitliche Bindung in der Bildung der Ascogone konnte nicht gefunden werden, doch treten sie in den von August bis November gesammelten Proben häufiger auf als in zu anderen Zeiten angebrachten Stücken. Freilich wurden Ascogone auch im Frühjahrsmaterial gefunden; andererseits liegen schöne Proben vom Herbst vor, die überhaupt keine frühen Stadien der Fruchtentwicklung aufweisen.

Das vorliegende Material gestattet den Schluß, daß an extremen Standorten wachsende Thalli seltener zur Fruktifikation gelangen. Als extreme Standorte kommen in Frage Kalkblöcke im tiefen Waldesschatten und, in noch stärkerem Maße sonnendurchglühte Kalkfelsen am Wüstenrand. Ein Teil meiner endolithischen Flechten von El Kantara (Algerien, Dep. Constantine) ist überhaupt steril und damit unbestimmbar; die Oberfläche läßt gelegentlich kleine Gruben erkennen. Es läßt sich hier zwar nicht beweisen, daß diese Gruben von ausgefallenen Früchten herrühren; ist es jedoch so, dann ist das ein Hinweis dafür, daß diese Flechten vielleicht einmal in Jahrzehnten zur Sporenbildung kommen.

Sicherlich sind die Fruchtprimordien gegen Austrocknung und Erhitzung besondes im feuchten Zustand empfindlicher als Thallus und Sporen. Die Resistenz dieser immerhin weitaus robusteren Flechtenteile ist uns durch Thomas (1939) und Lange (1953) bekannt. Es darf angenommen werden, daß am Standort ganz bestimmte mikroklimatische Verhältnisse herrschen müssen, wenn eine Entwicklung der Primordien sichergestellt sein soll. Das stimmt gut mit der Beobachtung überein, daß im mitteleuropäischen Material die Stadien um so geschlossener

aufeinanderfolgen, je tiefer die Primordien im Thallus und damit bei unseren Proben im Substrat liegen. Dort sind sie weniger schwankenden mikroklimatischen Bedingungen ausgesetzt als in flacher liegenden Schichten. Auch ein Vergleich mit *Lithoicea*- und *Dermatocarpon*-Arten weist auf diesen Faktor hin.

7. Variation durch Substratverschiedenheiten. Vom Grundsatz, die Variationsbreite nur innerhalb eines Individuums zu untersuchen, wurde nur in einem Falle abgewichen. Von *Staurothele meylanii* stammt eine Probe (Obj. 73) von einem grauen, dichten und widerstandsfähigen alpinen Kalkgerölle, die andere (Obj. 74) von anstehendem, ziemlich weichen Tonmergel. Beide wurden am selben Standort, Lechschlucht bei Roßhaupten, am gleichen Tag in unmittelbarer Nachbarschaft aufgenommen und in derselben Serie verarbeitet. Über den Standort und seine Flechten vgl. KLEMENT (1956).

Die Entwicklung der Frucht verläuft bei dieser Art in beiden Proben bis zur Reife in der angegebenen Weise gleich.

Auf dem widerstandsfähigen Substrat bleiben die Früchte eingesenkt, sie erheben sich mit der Mündung nur wenig über die Umgebung. Rinden- und Algenschicht des Thallus umschließen den Hals der Frucht; deren Hohlraum liegt darunter. Die Abtragung der Gesteinsoberfläche und damit die Tieferlegung des Thallus erfolgt langsam und die Früchte durchlaufen ihre volle Entwicklung, bevor Algen- und Rindenschicht bis zur Wölbung der Frucht eingesunken sind (Abb. 18a—f).

Auf dem weniger widerstandsfähigen Substrat aber erfolgen Erosion und Tieferlegung des Thallus rasch, besonders wohl durch die Hochwässer, denen diese Pegelflechten regelmäßig ausgesetzt sind. Zwischen den Früchten verlagert sich der Thallus in dem Maße tiefer, in dem das Substrat erodiert wird. Unter den kompakten großen Früchten kann die Abtragung nur äußerst gering sein; sie heben sich also mehr und mehr aus dem Thallusniveau heraus. Der den Fruchthals umschließende Thallus kann sich aber nicht weiter ins Substrat einsenken, wenn er die Oberseite des Fruchtbauches erreicht hat. Er bleibt als Kragen erhalten, verliert auch wohl seine Substratumhüllung bis auf größere Kristalle des Substrats, die durch die Hyphenumklammerung festgehalten werden. (Diese Kristalle sind oft die Ursache von Wachstumsstörungen in Thallus und Frucht.) Die nun mehr oder weniger freiliegenden Thalluselemente schwärzen sich. Die schwärzliche Umhüllung, die den Mündungsteil der Frucht umgibt, täuscht bei dicken (Hand-)Schnitten ein Involucrellum (apicale) vor. Sie ist jedoch lockerer, nicht plectenchymatisch, weist mitunter noch lebende Algen auf und gibt sich durch ihre Entwicklungsgeschichte als Teil des Thallus zu erkennen (Abb. 18g—m). Da alte, aber noch sporulierende Früchte dem Thallus halb eingesenkt sind bis

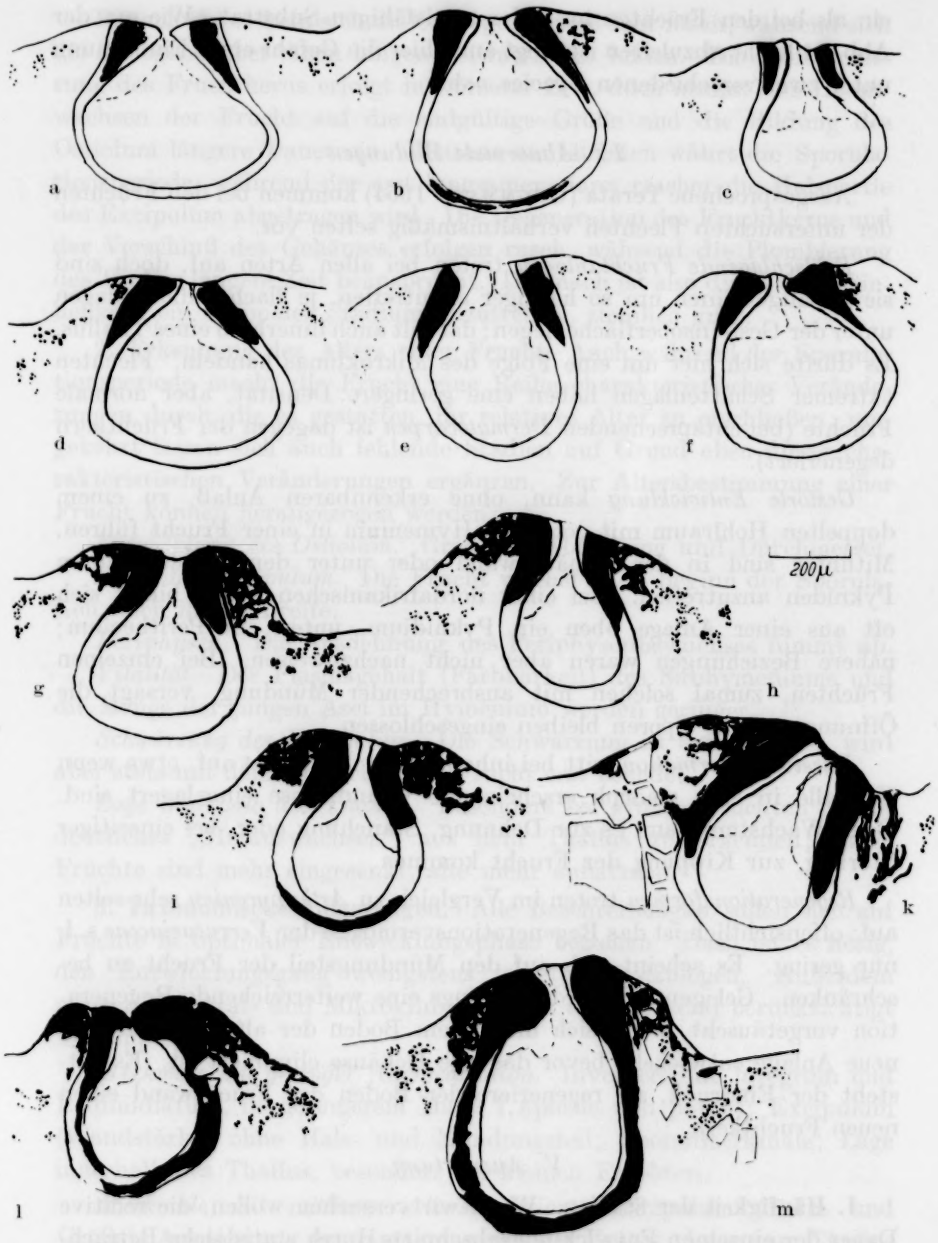


Abb. 18a—m. *Staurothele meylanii*. a—f Früchte von widerstandsfähigem Substrat; g—m Früchte von weichem Substrat

fast aufsitzen und in dieser lockeren Umhüllung doch nur wenig Schutz finden, setzt die Schwärzung des Excipulum kräftiger und früher

ein als bei den Früchten im widerstandsfähigen Substrat. Wie aus der Abb. 14 leicht abzuleiten ist, liegt auch hier die Gefahr einer Einordnung unter zwei verschiedenen Species nahe.

IV. Abnormale Bildungen

Ausgesprochene Terata (GRUMMANN 1954) kommen bei den Früchten der untersuchten Flechten verhältnismäßig selten vor.

Fehlschlagende Fruchtanlagen treten bei allen Arten auf, doch sind sie im allgemeinen um so häufiger anzutreffen, je flacher die Anlagen unter der Gesteinsoberfläche liegen; das gilt auch innerhalb eines Thallus. Es dürfte sich hier um eine Folge des Mikroklimas handeln. Flechten extremer Schattenlagen haben eine geringere Densität, aber normale Früchte (bei entsprechenden *Dermatocarpen* ist dagegen der Fruchtkern degeneriert).

Gestörte Entwicklung kann, ohne erkennbaren Anlaß, zu einem doppelten Hohlraum mit geteiltem Hymenium in einer Frucht führen. Mitunter sind in der Gehäusewand oder unter dem Subhymenium Pykniden anzutreffen. Bei einer nordafrikanischen Probe bildet sich oft aus einer Anlage oben ein Pyknidium, unten ein Perithecium; nähere Beziehungen waren aber nicht nachzuweisen. Bei einzelnen Früchten, zumal solchen mit ausbrechender Mündung, versagt die Öffnung und die Sporen bleiben eingeschlossen.

Passive Deformation tritt bei inhomogenem Substrat auf, etwa wenn Kristalle in eine amorph erscheinende Grundmasse eingelagert sind. Beim Wachstum kann es zur Dehnung, Stauchung oder, bei einseitiger Störung, zur Kippung der Frucht kommen.

Regenerationsformen treten im Vergleich zu *Arthopyrenien* sehr selten auf; offensichtlich ist das Regenerationsvermögen der *Verrucariaceae* s. l. nur gering. Es scheint sich auf den Mündungsteil der Frucht zu beschränken. Gelegentlich wird allerdings eine weiterreichende Regeneration vorgetäuscht, wenn sich unter dem Boden der alten Frucht eine neue Anlage entwickelt, bevor das alte Gehäuse eliminiert ist. Es entsteht der Eindruck, als regeneriere der Boden der Fruchtwand einen neuen Fruchtkern.

V. Auswertung

1. Häufigkeit der Stadien. Wenn wir versuchen wollen, die relative Dauer der einzelnen Entwicklungsabschnitte durch statistische Betrachtung der Stadien zu ermitteln, so dürfen wir das nur an Hand des Gesamtmaterials, weil in den einzelnen Proben bestimmte Stadien aus jahreszeitlichen Gründen vorherrschen können, auch wenn sie nicht lange andauern.

Danach entwickeln sich die Carpogonknäuel sehr rasch, während sich die Ascogone über einen langen Zeitraum hin bilden. Die Differenzierung des Fruchtkerns erfolgt in kürzerer Zeit, doch nimmt das Heranwachsen der Frucht auf die endgültige Größe und die Bildung des Ostiolum längere Dauer ein. Weitaus am längsten währt die Sporulationsperiode, während der erst langsamer, dann rascher die Halspartie des Excipulum abgetragen wird. Die Degeneration des Fruchtkerns und der Verschluß des Gehäuses erfolgen rasch, während die Plombierung des Thallus längere Zeit beansprucht. Demnach ist also die Wahrscheinlichkeit, ein optimales Stadium anzutreffen, ziemlich groß.

2. Erkennung des Alters einer Frucht. Auch während der Sporulationsperiode macht die Frucht eine Reihe charakteristischer Veränderungen durch, die es gestatten, ihr relatives Alter zu erschließen; umgekehrt lassen sich auch fehlende Stadien auf Grund eben dieser charakteristischen Veränderungen ergänzen. Zur Altersbestimmung einer Frucht können herangezogen werden:

Entwicklung des Ostiolum. Grad der Abtragung und Durchmesser.

Form des Excipulum. Die Frucht wächst nach Beginn der Sporulation noch in die Breite.

Periphysen. Die Ausdehnung des Periphysenbewuchses nimmt ab.

Vitalität. Der Plasmagehalt (Färbbarkeit) des Subhymeniums und die Menge der jungen Asci im Hymenium werden geringer.

Schwärzung des Excipulum. Die Schwärzung ist artspezifisch, wird aber stets mit dem Absterben der Frucht erst beendet.

Lage innerhalb des Thallus. Besonders bei großen Früchten ist ein deutliches „Herauswachsen" aus dem Thallus zu erkennen; junge Früchte sind mehr eingesenkt, alte mehr aufsitzend.

3. Taxonomische Folgerungen. Alle Beschreibungen sollen sich auf Früchte in optimaler Entwicklungsphase beziehen. Dazu ist es nötig, den Entwicklungsgang wenigstens in etwa festzulegen. Außerdem müssen Substrat- und Mikroklimaeinflüsse entsprechend berücksichtigt werden.

Merkmale mit geringer Altersvariation. Involucrellum integrum und I. dimidiatum, in geringerem Maße I. apicale und patens; Excipulum (Wandstärke) ohne Hals- und Mündungsteil; Sporenmerkmale; Lage innerhalb des Thallus, besonders bei kleinen Früchten.

Merkmale mit mittlerer Altersvariation. Excipulum (Form und Größe); Ausdehnung des Hymeniums in der Frucht; Lage zum Thallus bei weichem Substrat.

Merkmale mit großer Altersvariation. Ostiolum (Lage und Weite); Periphysen. Auch diese Merkmale lassen sich aber gut verwenden, wenn man sich jeweils auf Früchte etwa gleichen Alters bezieht.

4. Phylogenetische Folgerungen. Die bisherigen Versuche, die *Verrucariaceae* s. lat. systematisch zu gliedern, stützen sich hauptsächlich auf morphologische und anatomische Untersuchungen. Die Schwierigkeiten, das erforderliche Material in allen Entwicklungsstadien zu erhalten, stehen den mikrotechnischen Problemen in keiner Weise nach. Es ist daher verständlich, daß entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen auf breiter Basis und an einer größeren Zahl von Arten noch ausstehen. Gerade sie aber wären dazu imstande, die systematische Anordnung und

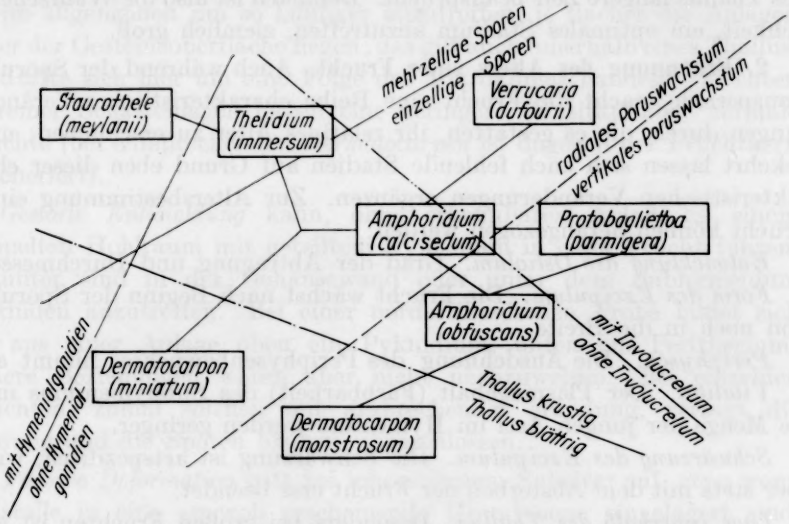


Abb. 19. Schema zur Entwicklungsgeschichte der *Verrucariaceae* s. l.

Gliederung der einzelnen Taxa zu stützen und damit ein natürliches, also phylogenetisches System innerhalb der phyletisch einheitlichen Teile der Flechten zu erarbeiten.

In diesem Zusammenhang erhält das Involucrellum eine besondere Bedeutung. Das Involucrellum der *Verrucaria dufourii* ist schon vor der Bildung der Ascogone angelegt. Bei *Protobagliettoa parmigera* bildet es sich anders und später, aber noch vor der Differenzierung des Fruchtkerns. In der Entwicklung von *Amphoridium calcisedum* taucht während der Differenzierung des Fruchtkerns an der Oberseite der Anlage eine dünne, geschwärzte Schicht auf, die alsbald wieder abgestoßen wird und kaum als Involucrellum bezeichnet werden kann. Bei einer anderen Art derselben Gattung findet sich nicht einmal diese Andeutung, ebenso bei *Thelidium immersum*. *Dermatocarpon miniatum* weicht hier kaum ab; *Staurothele meylanii* unterscheidet sich nur durch die enorme Größe der Anlagen (von den Sporen und Hymenialgonidien abgesehen). *Amphoridium obfuscans* und *Dermatocarpon monstrosum* folgen einem

Entwicklungstyp, der zwischen dem von *Protobagliettoa parmigera* und *Amphoridium calcisedum* steht.

In der Art der Entwicklung des Involucrellum bestehen also zwischen *Verrucaria* und *Protobagliettoa* erhebliche Unterschiede. Die von SERVÍT (1955) durchgeführte Trennung *Verrucaria—Protobagliettoa* ist entwicklungsgeschichtlich nur zu begrüßen.

Es wäre müßige Spekulation, auf Grund der zweieinhalb Dutzend untersuchter Arten von *Verrucariaceae* s. lat. phylogenetischen Konstruktionen nachgehen zu wollen. Sobald man mehrere Merkmale heranzieht, steht man vor unlösbaren Widersprüchen. Deshalb kann das gegebene Schema (Abb. 19) nur eine anatomisch-entwicklungsgeschichtliche Zusammenstellung, keinesfalls eine phylogenetische Übersicht sein.

Zusammenfassung

1. Es ist notwendig, große Schnittserien anzufertigen, um Entwicklungsgeschichte und Variabilität der Flechten und damit die Grundlage für ein brauchbares System zu erarbeiten. Aus methodischen Gründen wurde mit endolithischen *Verrucariaceae* s. lat. begonnen.

2. Bei der Präparation werden die Elemente der Flechte durch Zelloidin verbunden, dann erst freigelegt und über Zedernholzöl in Paraffin gebracht. Zur Färbung wurde überwiegend Azan nach HEIDENHAIN, zum kleineren Teil Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN progressiv verwendet.

3. Der Thallusbau wurde vor allem auf die Brauchbarkeit zur Charakterisierung der Arten untersucht. Besondere Berücksichtigung fanden Ölhyphen (Sphäroidzellen) und Protothallus.

4. Das Wachstum des Thallus findet stets gegen die Konkurrenz von Flechten oder endolithischen Algen statt.

5. Die freien Thallusränder haben ihr Vegetationszentrum (als Vegetationsscheitel bezeichnet) nicht an der Thallusoberfläche, sondern in mittlerer Tiefe; von hier aus entwickeln sich nach oben Algenschicht und Rindenschicht (mit Deckhyphen), nach unten die Markschicht.

6. In der Randzone werden fremde Algen und Pilzanflüge eliminiert. Die Thallusalgen werden durch schiebehyphenähnliche Stränge in tiefen Schichten randwärts gebracht.

7. Der Flechtenthallus wächst nicht durch Kalkumlagerung nach oben auf, sondern unterliegt der allgemeinen Abtragung. Aus radialem Wachstum und Abtrag der Deckhyphenschicht läßt sich deren numerische Größe und damit das absolute Alter von eingesenkten Flechtenfrüchten ermitteln.

8. Die Abhängigkeit des Thallusbaus vom Standort im allgemeinen, vom Substrat im besonderen wurde untersucht. Es ergab sich, daß Hyphen und Algen den Kristallstrukturen (Spaltflächen) folgen.

9. Als Modelle für die Perithecienentwicklung der untersuchten Flechten wurden beschrieben: *Protobagliettoa parmigera* Serv. (Obj. 84), *Amphoridium calcisedum* SERV. (Obj. 127), *Thelidium immersum* Mudd. (Obj. 123), *Verrucaria dufourii* DC. (Obj. 11) und *Staurothele meylanii* B. d. Lesd. (Obj. 74). Dabei wurde der Entwicklungszyklus möglichst vom Carpogon über die sporulierende Frucht bis zur Thallusregeneration (Plombierung) beschrieben.

10. Der Grad der Variabilität der Fruchtmerkmale, besonders Lage zum Thallus, Excipulum, Ostiolum, Periphysen und Involucrellum, wurde zusammengestellt.

11. Die Variabilität ließ sich großenteils auf Alters- und Substrateinflüsse zurückführen.

12. Es wurden die Möglichkeiten zur Bestimmung des relativen Alters einer Frucht aufgezeigt.

13. Für die Taxonomie ergibt sich die Möglichkeit, die optimale Phase der Fruchtentwicklung aufzusuchen oder zu rekonstruieren, und die Notwendigkeit, diese der Beschreibung zugrunde zu legen.

14. Für die systematische Gliederung der *Verrucariaceae* s. l. gibt die Entwicklungsgeschichte viele Hinweise, doch ist die Zahl der untersuchten Arten zu gering für weiterreichende Schlüsse. Vom entwicklungsgeschichtlichen Standpunkt aus ist die Gliederung der *Verrucariaceae* s. lat. nach SERVÍT weitaus am besten.

Literatur

ABBAYES, H. DES: Traité de Lichénologie. Paris 1951. 217 S. — BACHMANN, E.: Die Beziehungen der Kalkflechten zu ihrem Substrat. Ber. dtsch. bot. Ges. **8**, 141—145 (1890). — Der Thallus der Kalkflechten. Ber. dtsch. bot. Ges. **10**, 30—37 (1892a). — Der Thallus der Kalkflechten. Wiss. Beil. z. Progr. d. Realsch. Plauen i. V. 1—26 (1892b). — Zur Frage des Vorkommens ölführender Sphäroidzellen bei Flechten. Ber. dtsch. bot. Ges. **22**, 44—46 (1904a). — Die Beziehungen der Kieselflechten zu ihrem Substrat. Ber. dtsch. bot. Ges. **22**, 101—104 (1904b). — Die Rhizoidenzone granitbewohnender Flechten. Jb. wiss. Bot. **44**, 1—40 (1907). — Die Beziehungen der Kieselflechten zu ihrer Unterlage. II. Ber. dtsch. bot. Ges. **29**, 261—273 (1911). — Der Thallus der Kalkflechten. II. Ber. dtsch. bot. Ges. **31**, 3—12 (1913). — Ein kalklösender Pilz. Ber. dtsch. bot. Ges. **34**, 581—591 (1916). — Neue Flechtengebilde. Ber. dtsch. bot. Ges. **36**, 150—156 (1918a). — Wie verhalten sich Holz- und Rindenflechten beim Übergang auf Kalk? Ber. dtsch. bot. Ges. **36**, 528—539 (1918b). — Der Thallus der Kalkflechten. III. Nova Acta Leop. **100**, 1—80 (1919). — Über das Verhältnis der Gonidien zum Flechtenpilz. Hedwigia **64**, 233—255 (1923). — Zur Gonidienvermehrung bei Flechten. Ber. dtsch. bot. Ges. **45**, 308—314 (1927). — BAUR, E.: Zur Frage nach der Sexualität

der Collemaceen. Ber. dtsch. bot. Ges. **16**, 363—367 (1898). — Die Anlage und Entwicklung einiger Flechtenapothecien. Flora (Jena) **88**, 319—332 (1901). — Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte der Flechtenapothecien. I. Bot. Ztg **62**, 21—44 (1904). — Beschel, R.: Flechten als Altersmaßstab rezenter Moränen. Z. Gletscherk., N.F. **1** (2), 152—161 (1950). — Lichenometrie im Gletschervorfeld. Jb. Ver. Schutze Alpenpfl. u. -Tiere **22**, 164—185 (1957). — Bitter, G.: Über das Verhalten der Krustenflechten beim Zusammentreffen ihrer Ränder. Jb. wiss. Bot. **33**, 47—127 (1898). — Choisy, M.: Sur la classification naturelle en général, sa conception, son perfectionnement, et sur celle des Lichens en particulier. Bull. mens. Soc. Linn. Lyon **23**, 131—134 (1954). — Christiansen, S. M.: A study on the morphology of a new species of Verrucaria. Bot. Tidskr. **52**, 133—134 (1955). — Ertl, L.: Über die Lichtverhältnisse in Laubflechten. Planta (Berl.) **39**, 245—270 (1951). — Füisting, W.: De nonnullis apothecii lichenum evolvendi rationibus. Diss. Berlin 1865. 62 S. — Fünfstück, M.: Beiträge zur Entwickelungsgeschichte der Lichenen. Diss. Berlin 1884. 20 S. — Die Fettabscheidungen der Kalkflechten. Beitr. wiss. Bot. **1**, 1, 157—220 (1895a). — Weitere Untersuchungen über die Fettabscheidungen der Kalkflechten. Bot. Unters., Festschrift f. Schwendener 341—356 (1895b). — Die Fettabscheidung der Kalkflechten (Nachtrag). Beitr. wiss. Bot. **1**, 2, 316—321 (1896). — Lichenes, allgemeiner Teil. In Engler-Prantl, Die Natürlichen Pflanzenfamilien, 2. Aufl. Leipzig 1926. 60 S. — Frey, E.: Vorarbeiten zu einer Monographie der Umbilicariaceae. Ber. schweiz. bot. Ges. **45**, 198—230 (1936). — Gibelli, G.: Sugli organi riproduttore del genere Verrucaria. Mem. Soc. ital. Sci. nat. **1**, 1—14 (1865). — Sulla genesi degli apotecii delle Verrucariaceae. Nuovo Giorn. bot. ital. **2**, 194—206 (1870). — Grummann, V. J.: Über eine einheitliche Benennung von Bildungsabweichungen bei den Flechten. Ber. dtsch. bot. Ges. **67**, 59—68 (1954). — Holder, H.: Flechtenmosaik auf Kalkstein. A. d. Heimat **62**, 142—147 (1954). — Klement, O.: Das Staurotheletum meylanii, eine amphibische Flechtengesellschaft. Ber. bayer. bot. Ges. **31**, 124—128 (1956). — Klement, O., u. H. Doppelbaur: Über die Artberechtigung einiger mariner Arthopyrenien. Ber. dtsch. bot. Ges. **65**, 166—174 (1952). — Krabbe, G.: Entwicklung, Sprossung und Teilung einiger Flechtenapothecien. Bot. Ztg **40**, 1—34 (1882). — Entwicklungsgeschichte und Morphologie der polymorphen Flechtengattung Cladonia. Leipzig 1891. — Lange, O. L.: Hitze- und Trockenresistenz der Flechten in Beziehung zu ihrer Verbreitung. Flora (Jena) **140**, 39—97 (1953). — Lindau, G.: Über die Anlage und Entwicklung einiger Flechtenapothecien. Diss. Regensburg 1888. 44 S. — Über Wachstum und Anheftungsweise der Rindenflechten. Lichenol. Unters. **1**, 1—66 (1895). — Maas Geesteranus, R. A.: Revision of the Lichens of the Netherlands. I. Blumea **6**, 1—199 (1947). — Mattick, F.: Alte und neue Probleme der Lichenologie. Ber. dtsch. bot. Ges. **64**, 93—107 (1951). — Nienburg, W.: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte einiger Flechtenapothecien. Flora (Jena) **98**, 1—40 (1907). — Über die Beziehungen zwischen den Algen und Hyphen im Flechtenthallus. Z. Bot. **9**, 529—545 (1917). — Anatomie der Flechten. In Linsbauer, Handbuch der Pflanzenanatomie, II. Abt., 1. Teil, Bd. VI. 1926. 137 S. — Poelt, J.: Systematik der Flechten. Fortschr. Bot. **17**, 220—238 (1955); **18**, 75—82 (1956). — Reinke, J.: Abhandlungen über Flechten. I, II. Jb. wiss. Bot. **26**, 1—48 (1894); III, IV. **28**, 46—160 (1895a); IV. (Schluß) **28**, 158—288 (1895b); V. **29**, 288—354 (1896). — Romeis, B.: Taschenbuch der mikroskopischen Technik, 14. Aufl. München u. Berlin 1943. 956 S. — Santesson, R.: Foliicolous Lichens. I. Symb. bot. Upsal. **12**, 1, 1—590 (1952). — Schömmer, F.: Kryptogamen-Praktikum. Stuttgart 1949. 492 S. — Schwendener, S.: Untersuchungen über den Flechtenthallus. Beitr. wiss. Bot., C. Nägeli **2**, 108—186 (1860); II. **3**, 127—198 (1863); II. (Schluß) **4**, 161—202 (1868). — Die Algentypen

der Flechtengonidien. Progr. f. d. Rektoratsfeier d. Univ. Basel 1869. 42 S. — Servít, M.: The new Lichens of the Pyrenocarpae-group. I. Stud. bot. Čech. **7**, 49—111 (1946). — Species novae generis lichenum Verrucariae. Věstn. Královské České Společnosti Nauk **10**, 1—20 (1947). — The new Lichens of the Pyrenocarpae-group. II. Stud. bot. Čech. **9**, 67—115 (1948). — Species Verrucariacearum (Lichenes) novae vel minus cognitae. Sborník Národního Musea v Praze **5** B, Nr 9, 1—51 (1949). — The new Lichens of the Pyrenocarpae-group. III. Stud. bot. Čech. **11**, 7—41 (1950a). — The new Lichens of the Pyrenocarpae-group. IV. Stud. bot. Čech. **11**, 101—144 (1950b). — Novae species Italicae lichenum Pyrenocarporum. Ann. Mus. civ. Stor. nat. Genova **64**, 48—55 (1950c). — Species novae Americanae familiae Verrucariaceae. Bryol. **53**, 159—162 (1950d). — Nové vodní Verrucaria. Věstn. Královské České Společnosti Nauk **4**, 1—7 (1951). — Novae lichenum Pyrenocarporum species in Italia inventae. Webbia 8, 413—422 (1952a). Neue und weniger bekannte Arten der Familien Verrucariaceae und Dermatocarpaceae. Preslia **24**, 345—390 (1952b). — Novae lichenum Pyrenocarporum species in Italia inventae. II. Webbia **10**, 441—446 (1953a); III. Ann. Mus. civ. Stor. nat. Genova **66**, 236—249 (1953b). — Species novae Verrucariarum et generum affinium. Rozpr. Česk. Akad. Ved **63**, Nr 7, 1—33 (1953c). — Lichenes familiae Verrucariacearum. Prag 1954. 249 S. — Lichenes novi. Rozpr. Česk. Akad. Ved **65**, 1—54 (1955). — Stahlecker, E.: Untersuchungen über Thallusbildung und Thallusbau in ihren Beziehungen zum Substrat bei siliciseden Krustenflechten. Diss. Stuttgart 1905. 44 S. — Steiner, J.: Verrucaria calciseda, Petractis exanthematica. Ein Beitrag zur Kenntnis des Baues und der Entwicklung der Krustenflechten. Progr. k. k. Staatsgymn. Klagenfurt **31**, 1—51 (1881). — Thomas, E. A.: Über die Biologie von Flechtenbildnern. Beitr. Kryptog.fl. Schweiz **9**, 1—208 (1939). — Tobler, F.: Zur Ernährungsphysiologie der Flechten. Ber. dtsch. bot. Ges. **29**, 3—12 (1911). — Wagner, G.: Einführung in die Erd- und Landschaftsgeschichte, 2. Aufl. Öhringen 1950. 664 S. — Zschacke, H.: Epigloeaceae, Verrucariaceae und Dermatocarpaceae. Rabenhorst. Kryptog.fl. **9**, I. Abt., 1. Teil, Leipzig (1934). — Zukal, H.: Über das Vorkommen von Reservestoffbehältern bei Kalkflechten. Bot. Ztg **44**, 761—770 (1886). — Morphologische und biologische Untersuchungen über die Flechten. I. S.-B. Akad. Wiss. Wien, math.-nat. Kl. **104**, 529—574 (1895a); II. **104**, 1303—1395 (1895b); III. **105**, 197—264 (1896).

Studienrat Dr. H. W. Doppelbaur,
Günzburg a. d. Donau, Schützenstr. 5

Planta 53, 293—317 (1959)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Erlangen

GLEICHZEITIGE INDUKTION VON SPROSSEN UND WURZELN AN IN VITRO KULTIVIERTEN GEWEBESTÜCKEN VON *CYCLAMEN PERSICUM*

Von

ERNST STICHEL

Mit 12 Textabbildungen

(Eingegangen am 7. Februar 1959)

Einleitung

Die Untersuchungen von L. MAYER an in vitro kultivierten Gewebestücken von *Cyclamen persicum* zeigten, daß allein durch Konzentrationsänderung des verwendeten Wuchsstoffes α-Naphthylessigsäure (NES) an den Knollenstücken Sprosse oder Wurzeln — neben Kork- und Callusbildung — induziert werden konnten. Daneben erwiesen sich Adenin und Guanin als ausschließlich sproßbildende Substanzen. Normalerweise entstanden in diesen Versuchen aber nie beide Organe gleichzeitig an einem Gewebestück; von einigen Ausnahmen abgesehen war also die Regeneration der Segmente bis zur ganzen Pflanze nicht gelungen. SKOOG und TSUI (1948 und 1951) konnten an *Nicotiana tabacum* durch Zugabe verschiedener Wuchsstoffe sowohl Sprosse als auch Wurzeln an einem Segment erzielen. Da MAYER bei ihren Versuchen aber doch wenigstens gelegentlich auch an Cyclamen-Segmenten eine gleichzeitige Sproß- und Wurzelbildung beobachtet hatte, schien auch bei *Cyclamen persicum* die Möglichkeit durchaus gegeben, unter bestimmten Bedingungen ebenfalls eine regelmäßige, gleichzeitige Induktion beider Organe zu erreichen. In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob und inwieweit auch bei diesem Objekt durch Kombination von NES mit Adenin, Guanin (-HCl) oder Nicotinsäure eine gleichzeitige Induktion von Sprossen und Wurzeln möglich ist. Dabei war vor allem die gegenseitige Beeinflussung dieser Substanzen von Interesse. Weiter sollte festgestellt werden, wie weit bereits in einer Richtung induzierte Gewebestücke durch Übertragung auf einen die entgegengesetzte Reaktion induzierenden Nährboden noch umgestimmt werden können.

Cyclamen persicum erwies sich auch hier als ein sehr günstiges Objekt, so daß die gestellten Fragen mindestens qualitativ eindeutig beantwortet werden konnten. In den meisten Fällen war auch eine quantitative Auswertung möglich.

Material und Methode

Während sich die von MAYER beschriebene Methode zum keimfreien Ansatz von Gewebekulturen bei *Cyclamen persicum* anfänglich auch bei den vorliegenden Versuchen als hinreichend erwies, fielen bei den weiteren Versuchsreihen in zunehmendem Maße ganze Ansätze durch Bakterien- und Pilzbefall aus. Es konnte dabei eindeutig nachgewiesen werden, daß sich in diesen Fällen Keime und Sporen bereits im Knollengewebe befanden, wie es auch MAYER schon vermutet hatte. Bisher war jedoch keine Methode zu finden, die eine hinreichend schnelle, sichere und einfache Prüfung der Knollen auf Befall ermöglicht hätte, um nur gesunde Pflanzen verwenden zu können. Ebenso waren sämtliche Versuche fehlgeschlagen, die Keime in der Knolle abzutöten (MAYER, KANDLER u. NEUMAIR; NILSSON u.a.), etwa durch Einlegen der Segmente — nicht nur wie bisher der ganzen, gereinigten Knolle — in Natriumhypochlorit- (MERCK), Sublimat- (0,02%ig), Chinosol- (0,1%ig) oder Aureomycin-Lösung (0,1%ig) sowie Einbringen in SO_2- oder Cl_2-Atmosphäre für verschieden lange Zeit. Da in den meisten Fällen die Bakterien aus den Segmenten austraten und das Nährmedium zerstörten, das Gewebe selbst aber äußerlich gesund erschien und erst nach dem Einsinken in das Substrat abstarb, wurde versucht, durch Zugabe von bactericiden bzw. bakteriostatischen Stoffen zur Nährlösung die Bakterien wenigstens im Nährmedium abzutöten oder in ihrem Wachstum zu hemmen. 50 mg/l Aureomycin zur sterilisierten, 90° C heißen Nährlösung gegeben und sofort in den Kulturgefäßen bei 80° C im Trockenschrank 30 min nachsterilisiert, erwiesen sich als ausreichend bakteriostatisch.

Diese Methode kam bei allen ausgewerteten Versuchen zur Anwendung; lediglich wurde das Aureomycin durch das in der Wirkung gleiche, aber weit stabilere Achromycin (VONDERBANK) ersetzt. Die von WHITE angegebene Kombination Antibioticum-Sulfonamide war ungeeignet, da eine erhebliche Störung der Wuchsstoffwirkung eintrat (vgl. SCHOPFER u. ANKER). Der Ausfall von Kulturen durch Befall mit Pilzen, der durch diese Maßnahme nicht verhindert werden konnte, war gering.

Wie der Vergleich von Versuchen mit und ohne Achromycin ergab, wird durch das der Nährlösung zugegebene Achromycin die Reaktion der Cyclamen-Gewebestücke[1] grundsätzlich nicht geändert — eine gesteigerte Callusbildung durch Achromycin-Spaltprodukte (vgl. CAMUS u. LANCE) oder erhöhtes Wurzelwachstum, bedingt durch Achromycin selbst (vgl. BARTON u. MCNABB), waren nicht feststellbar —, lediglich eine Verzögerung der Reaktion war zu beobachten.

Tabelle

	Zahl der Sprosse	Zahl der Wurzeln	Erstes Erscheinen nach Tagen		
			Callus	Wurzeln	Sprosse
NES ohne Achromycin .	9,4	9,4	20—28*	30—60	35—65
			22**	40	45
NES mit Achromycin . .	9,8	10,5	25—35*	40—75	45—85
			27**	50	60

* Jahreszeitliche Schwankung.
** Vergleichbare Werte.

Abweichend davon verhielten sich nur Gewebestücke, die sehr stark mit Bakterien befallen waren. Zwar wurden auch in diesen Fällen die Bakterien beim Austritt aus dem Gewebe durch das Achromycin in ihrer Vermehrung gehemmt, die

[1] Nach noch unveröffentlichten Ergebnissen scheint dieser Befund für andere Objekte nicht gültig zu sein.

Organbildung der Segmente war jedoch erheblich gestört bzw. ganz unterdrückt, auch wenn die Segmente selbst nicht abstarben. Die aus diesem Grunde keine Reaktion zeigenden Segmente ließen sich aber — ohne die Segmente aus den Kulturgefäßen nehmen zu müssen — mit Sicherheit daran erkennen, daß sich bei befallenen Kulturen an der Substratseite eine Schleimschicht bildete, die beim Schrumpfen des Nährbodens an den Reagensglaswänden einen gelblichen bis bräunlichen, trüben Belag hinterließ. Die Hemmung bzw. Unterdrückung der Organbildung in diesen Segmenten scheint dabei durch einen Hemmstoff hervorgerufen zu werden, den die aus den Segmenten austretenden Bakterien erst in dem Nährsubstrat bilden; denn stark befallene Segmente zeigten eine allseits nur wenig verzögerte, normale Phellodermbildung, außer auf der Substratseite, wo diese erheblich gestört war bzw. unterblieb. Der hier vermutlich schon nach kurzer Zeit gebildete Hemmstoff wandert erst langsam in das Gewebe ein, kann die bereits in Gang befindliche Korkbildung an den übrigen Flächen jedoch nur noch wenig verzögern, wohl aber die erst später einsetzende Organbildung völlig unterdrücken. Diese Annahme wird durch folgenden Versuch gestützt.

Es wurden zwei — bis auf Agar — fertige Nährlösungen, 0,005 bzw. 5,0 mg/l NES enthaltend, mit Bakterien geimpft und 14 Tage stehengelassen. Nach dem Abfiltrieren wurde Agar zugesetzt, 5 min bei $^1/_2$ atü sterilisiert, Achromycin zugegeben und, in Gläser gefüllt, $^1/_2$ Std bei 80° C nachsterilisiert. Auf diesem so behandelten Nährboden wiesen die eingesetzten Segmente noch nach 6 Wochen auf keiner Seite Kork oder Organe auf, obwohl die Kontrollen, ungeachtet der Wuchsstoffzugabe, nach 1—2 Tagen ein Phellogen und nach einer Versuchsdauer von 42 Tagen entsprechend den NES-Gaben ein Phelloderm und eine große Zahl von Organen gebildet hatten (vgl. KAUPPERT). In diesem Fall konnte offenbar der vorher im Nährsubstrat gebildete Hemmstoff an den gesunden Segmenten sofort von Anfang an die gesamte Differenzierung unterdrücken.

Der Befall der Knollensegmente mit Bakterien zeigte nun ganz auffällige jahreszeitliche Schwankungen. Er weist ein Maximum zwischen November und Januar und ein Minimum im Juni auf.

Diese jahreszeitliche Schwankung steht in direktem Zusammenhang mit einer entsprechenden Schwankung der Reaktionsfähigkeit, die — gemessen an der Zahl der angelegten Organe — im Juni am größten und zwischen November und Januar am geringsten ist. Solche jahreszeitliche Schwankungen des physiologischen Zustandes von Geweben, etwa in ihrer Reaktionsfähigkeit auf Wuchsstoff oder andere Einflüsse, sind vielfach beschrieben und auf verschiedene Ursachen zurückgeführt worden: so auf wechselnden Wuchsstoffgehalt (GAUTHERET, KULESCHA) oder Hemmstoffgehalt (VOSS), auf einen variierenden Anteil an aktivem bzw. inaktivem Wuchsstoff (FUNKE u. SÖDING, MEYER) bzw. ein wechselndes Verhältnis zwischen Wuchsstoff, Hemmstoff und inaktivem Wuchsstoff (POHL, TEGETHOFF, VOGT, BAUMEISTER). HEMBERG (1954a und b), dessen Befunde durch BLOEMHART papierchromatographisch gestützt wurden, sieht die Ursache im Festlegen des freien Wuchsstoffes zu Beginn der Ruhezeit und in der Aktivierung vor dem Austreiben, wobei der Wuchsstoff an die Stellen des Wachstums in Sproß und Wurzeln abtransportiert wird. Es ist durchaus damit zu rechnen, daß solche Wuchsstoffschwankungen bzw. Umlagerungen von Wuchsstoff im Laufe der Entwicklung auch bei *Cyclamen persicum* erfolgen, daß während der Ruhezeit, in der die Cyclamen-Knolle am reaktionsfähigsten ist, der natürliche Auxingehalt — frei oder gebunden — im Parenchym am höchsten wäre und im Augenblick des Austreibens abfällt. Daß aber — jedenfalls bei *Cyclamen persicum* — nicht allein ein wechselnder Wuchsstoffgehalt der Knolle für die wechselnde Reaktionsfähigkeit und Abwehrkraft gegen Bakterienbefall verantwortlich sein dürfte, geht wohl daraus

hervor, daß die Reaktionsfähigkeit der Gewebestücke in den NES-Versuchen gleichmäßig für alle NES-Konzentrationen erhöht bzw. erniedrigt ist, im besonderen der Umschlagspunkt stets unverändert bei derselben NES-Konzentration des Mediums gelegen ist. In der Knolle ist wahrscheinlich in jahreszeitlich wechselnder Menge ein Stoffkomplex enthalten, der die Ansprechbarkeit des Gewebes auf organbildende Substanzen (Reaktionsfähigkeit) bestimmt. Zusammen mit diesem Komplex bewirken NES, Guanin, Adenin und Nicotinsäure die Anlage von Organen, ähnlich wie es LIBBERT (1956) für die Wurzelbildung an *Pisum* beschreibt. Aus den über das ganze Jahr laufenden NES-Kontrollreihen ist diese Tatsache direkt an der Zahl der angelegten Organe abzulesen. Die Reaktionsfähigkeit der Knollensegmente ist dabei in bezug auf die Sproßbildung und in bezug auf die Wurzelbildung völlig gleichartig.

Für die Auswertung der Versuche ist diese im Laufe des Jahres gesetzmäßig wechselnde Reaktionsfähigkeit der Knollensegmente insofern von großer Bedeutung als zu einem Vergleich streng genommen nur gleichzeitig bzw. mit gleichartigem, Material angesetzte Versuche verwendet werden dürfen und bei einem Vergleich von Versuchsreihen, die zu verschiedenen Jahreszeiten angesetzt wurden, auch die unterschiedliche Reaktionsfähigkeit zu berücksichtigen ist.

Abschließend sei die gegenüber MAYER durch Verwendung von Achromycin etwas abgewandelte Methode zur Gewinnung steriler Kulturansätze von *Cyclamen persicum*, die bei den vorliegenden Untersuchungen zur Anwendung kam, kurz zusammengefaßt: Der Nährlösung, die nur die Nährsalze (Standard I bei MAYER und HOAGLANDs A—Z, ohne Vitamine), Agar und Zucker enthielt, wurden nach dem Sterilisieren (30 min 1 atü) Vitamine, Glykokoll, Nicotinsäure, 50 mg/l Achromycin sowie die jeweilige Wuchsstoffmenge zugegeben. Die sofort damit gefüllten Kulturgefäße wurden bei 80° C im Trockenschrank 30 min nachsterilisiert. Die geschälten, warm gewaschenen und 12 Std in 0,02%ige Sublimatlösung eingelegten Knollen wurden in der Impfkabine auf sterilem Filtrierpapier (um eine Infektion mit Bakterien aus anderen Knollenteilen zu vermeiden) unter einer Plexiglashaube geschnitten. Das Einlegen der Segmente in die Gefäße erfolgte mit ausgekochten Geräten unter Abflammen des Kulturgefäßrandes immer so, daß Stücke einer Knolle gleichmäßig auf alle gleichzeitig angesetzten Versuche verteilt wurden. Dadurch erhielt jeder Versuch gleiches Material, so daß Vergleiche ohne größere Fehler möglich waren. Vor allem wurde so vermieden, daß ein Versuchsansatz wegen starken Befalls ganz ausfiel.

Eigene Untersuchungen

I. Induktion von Sprossen und Wurzeln durch Kombination organbildender Substanzen

Bevor die Kombinationsversuche zwischen sproß- und wurzelinduzierenden Stoffen im einzelnen dargestellt werden, soll als Vergleichsbasis zuerst eine kurze Darstellung der Versuche folgen, bei denen die verwendeten Stoffe jeweils allein der Nährlösung zugesetzt waren.

1. Die Wirkung der verwendeten Substanzen allein. *a) α-Naphthylessigsäure.* 0,005; 0,01; 0,05; 0,1; 0,5; 1,0; 3,0 und 5,0 mg/l NES. Die über das ganze Jahr sich erstreckenden NES-Kontrollversuche hatten, abgesehen von den bereits auf S. 295 erwähnten jahreszeitlichen Schwankungen in der Reaktionsfähigkeit, dieselben Ergebnisse, wie sie bereits MAYER erhalten hatte: Von 0,005—0,1 mg/l NES werden Sprosse und von 0,5—5,0 mg/l NES Wurzeln angelegt. Der Umschlagpunkt

bei etwa 0,3 mg/l NES blieb in allen Versuchsreihen erhalten (Abb. 1). Der von MAYER schon beobachtete Knick in der Organkurve zwischen 2,0 und 3,0 mg/l NES, der auch jetzt wieder in allen Versuchen festzustellen war, scheint nicht zufällig zu sein. Er dürfte durch die bei diesen Konzentrationen verstärkt einsetzende Callusbildung bedingt sein, die auch einen Teil der Wurzeln beim Durchwachsen der Callusschicht erfaßt, so daß dadurch die Zahl der schließlich zur Ausbildung gelangenden Wurzeln etwas abnimmt. Zu erwähnen ist ferner noch, daß die durch NES induzierten Sprosse — im Gegensatz zu den später zu besprechenden — jeweils in kleinen Gruppen auftraten, klein blieben und bei längerer Kultur leicht vertrockneten (Abb. 2a).

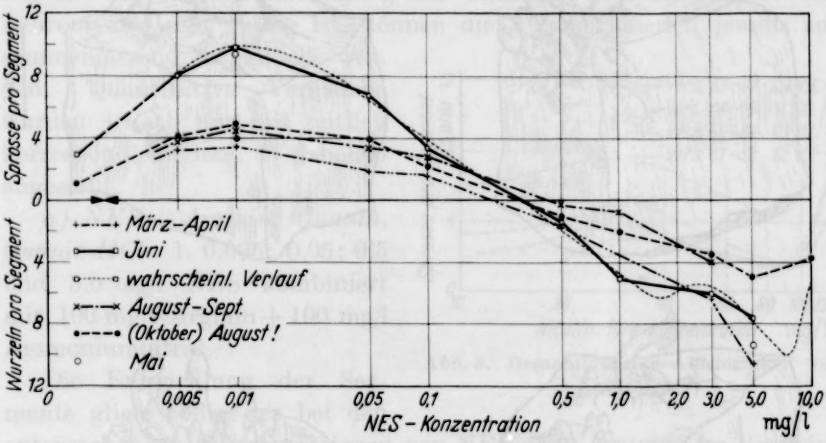


Abb. 1. Jahreszeitliche Schwankungen der Organbildung in Abhängigkeit von der NES-Konzentration

b) Guanin, Guanin-HCl. 80 mg/l Guanin; 0,1; 1,0 und 10,0 mg/l Guanin-HCl. Auch auf Guanin-HCl reagierten die Segmente von *Cyclamen persicum* in allen untersuchten Konzentrationen mit Sproßbildung in der von MAYER bereits für das schwerlösliche Guanin beschriebenen Weise. Die Zahl der gebildeten Sprosse ist weitgehend unabhängig von der Konzentration; erst bei 10 mg/l sinkt sie etwas ab. Bei dieser Dosis wird außerdem eine außerordentlich starke Korkschicht mit mehreren aufeinanderfolgenden Phellogenen angelegt (KAUPPERT). Obwohl die Anlage der Sprosse in genau derselben Weise erfolgte wie bei NES (KAUPPERT), unterschieden sich die Guanin-Sprosse doch in ihrer Weiterentwicklung dadurch von diesen, daß sich jeweils an 1—2 Sprossen eines Segments größere Blättchen mit einer Länge von 5—15 mm entwickelten, die sehr lange erhalten blieben, ohne abzusterben (Abb. 2b). In Verbindung mit 100 mg/l Arginin und 100 mg/l Ammoniumnitrat wurde das Sproßwachstum durch Guanin-HCl in der gleichen Weise wie durch Guanin gefördert. Wurzeln wurden nie angelegt.

c) Adenin. 20, 40, 60 und 100 mg/l Adenin.

Das dem Guanin verwandte Adenin wurde bereits von MAYER eingehend untersucht. Die vorliegenden Ergebnisse stimmen mit den von MAYER gefundenen völlig überein:

Von 10 mg/l bis 20 mg/l Adenin steigt die Zahl der Sprosse, fällt bis etwa 40 mg/l ganz leicht ab und erreicht bei 100 mg/l ihren höchsten Wert. Wie durch Guanin wurden auch durch Adenin 1—2 Sprosse gefördert, die jedoch nicht ganz

so groß wurden und leichter zugrunde gingen. Die übrigen Sprosse waren über das ganze Segment verteilt und blieben klein (Adenin-Sprosse, Abb. 2c).

d) Nicotinsäure. Neben den bereits von MAYER auf die organbildende Wirkung untersuchten Substanzen NES, Guanin und Adenin wurde erstmals an *Cyclamen persicum* auch Nicotinsäure in ihrer Wirkung auf die Organbildung eingehender untersucht, und zwar in mehreren, zeitlich

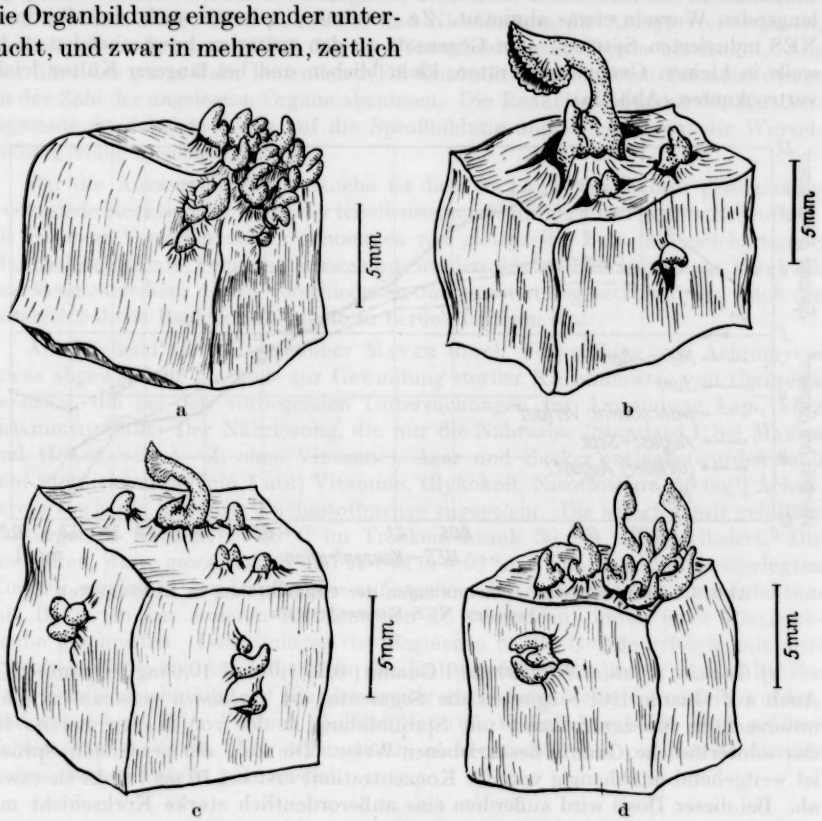


Abb. 2a—d. Sproßbildung unter dem Einfluß von a NES; b Guanin; c Adenin; d Nicotinsäure

verschiedenen Ansätzen in Konzentrationen von 10, 20, 30, 40, 60, 80, 100 und 120 mg/l. Obwohl die meisten Versuche zu Zeiten des stärksten Bakterienbefalls der Knollen angesetzt wurden und dadurch die Ausfälle zum Teil sehr groß waren, ergab sich, aus allen Werten zusammengenommen, doch folgendes Bild (Abb. 3):

Durch Nicotinsäure werden, ebenso wie durch Adenin und Guanin, Sprosse induziert. Bei einer Konzentration von 10—30 mg/l steigt die Zahl der gebildeten Sprosse etwas an, in dem Bereich von 40—100 mg/l fällt sie leicht ab, um bei 120 mg/l wieder stark anzusteigen. Das Verhalten der Segmente bei noch höheren Konzentrationen wurde nicht

untersucht. Nach der Ausbildung der Sprosse stand Nicotinsäure zwischen Guanin und NES. An 1—2 Sprossen wurden die Blättchen größer als an den anderen, meist gehäuft stehenden Sprossen. Alle angelegten Blättchen blieben gut erhalten. (Nicotinsäure-Sprosse, Abb. 2d.)

2. Kombinationen sproßbildender Substanzen mit NES. Wie in den oben geschilderten Versuchen, wurden auch in den folgenden Untersuchungen meist Vorversuche ohne Achromycin gemacht, denen 2 Versuchsserien (A und B) mit Achromycin zu verschiedenen Ansatzzeiten folgten. Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß der Einfluß des Achromycins sehr gering ist, können die 3 Versuchsserien jeweils zusammenfassend behandelt werden. Quantitative Vergleiche wurden jedoch nur mit zeitlich korrespondierenden Versuchen angestellt.

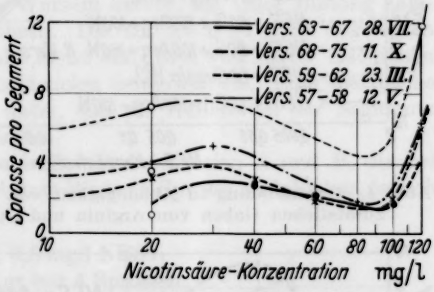


Abb. 3. Organbildung in Abhängigkeit von Nicotinsäure

a) NES + Arginin, Guanin, Guanin-HCl. 1. 0,005; 0,05; 0,5 und 3,0 mg/l NES kombiniert mit 100 mg/l Arginin + 100 mg/l Ammoniumnitrat.

Die Entwicklung der Segmente glich völlig der bei den entsprechenden Konzentrationen von NES ohne Arginin. Im Vergleich zu reiner NES liegt jedoch die Zahl der gebildeten Sprosse bzw. Wurzeln etwas höher (Abb. 4). Die Sprosse entsprachen durchweg den NES-Sprossen. Auch in der Wurzelbildung trat keinerlei Änderung ein.

Außer einer Kultur aus dem Ansatz mit 0,5 mg/l NES, die neben 3 Wurzeln 8 Sprosse trug, deutete nichts auf eine getrennte Wirksamkeit der Substanzen hin. In Verbindung mit NES kann also Arginin nur als Stimulans für Organbildung bezeichnet werden.

2. 0,005; 0,05; 0,5 und 3,0 mg/l NES kombiniert mit 80 mg/l Guanin + 100 mg/l Arginin + 100 mg/l NH_4NO_3 (Abb. 4).

Hier zeigte sich deutlich ein Einfluß des Guanins auf die Ausbildung von Kork, Callus und Organen. Der Kork war spröder, auch bei den höheren wurzelinduzierenden NES-Gaben, nur entsprechend dünner (Kauppert). Die Callusbildung war bei höheren NES-Konzentrationen in Anwesenheit von Guanin stark vermehrt, vor allem erschienen später auf der Substratseite der Segmente mächtige Callusvorwölbungen. Die Organbildung wurde insofern durch das Guanin nicht beeinflußt, als die Art der gebildeten Organe (Sprosse bzw. Wurzeln) allein durch die Konzentration der NES bestimmt wurde; auch der Umschlagpunkt war nicht verschoben, ebensowenig wurden in diesem Bereich beide Organe gleichzeitig gebildet. Dagegen zeigte sich ein Einfluß des Guanins auf

die Ausbildung der Organe. Von den Sprossen waren 1—2 im Wachstum stärker gefördert (vgl. Guanin allein S. 297, I., 1b), die Wurzeln machten einen kräftigeren Eindruck und waren häufig gebündelt, so daß sie scheinbar mehrere Vegetationspunkte besaßen. Wurzeln, die später aus den substratseitigen Callusmassen hervorbrachen, waren dagegen dünner und normal gebaut. Im übrigen vergrößerten sich alle Segmente sehr stark.

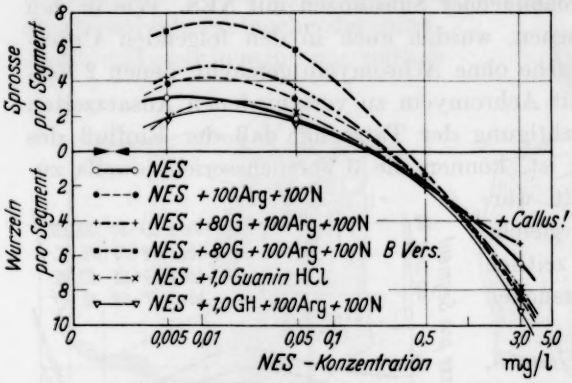


Abb. 4. Organbildung in Abhängigkeit von NES und zusätzlichen Gaben von Arginin und Guanin

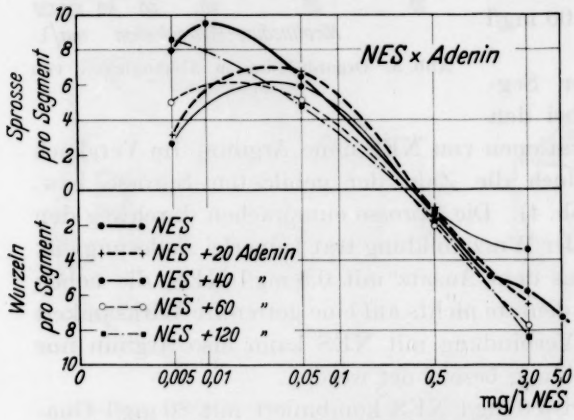


Abb. 5. Organbildung in Abhängigkeit von NES und zusätzlichen Gaben von Adenin; bezogen auf NES

3. 0,005; 0,05; 0,5 und 3,0 mg/l NES kombiniert mit 1,0 mg/l Guanin-HCl bzw. 1,0 mg/l Guanin-HCl + 100 mg/l Arginin + 100 mg/l NH_4NO_3 (Abb. 4).

In beiden Fällen war die Reaktion der Segmente der bei NES + Guanin etwa gleich. Sehr spröder Kork, 1—2 geförderte Sprosse und eine starke Volumzunahme der Segmente traten hier ebenfalls auf, lediglich die Callusbildung war bei Guanin-HCl + Arginin + NH_4NO_3 + 3,0 mg/l NES etwas und bei Guanin-HCl + 3,0 mg/l NES stark vermindert. Der hier auftretende lose Callus störte die Anlage und Ausbildung von Wurzeln weniger, da das Calluswachstum durch eine rasch einsetzende Phellogen-Tätigkeit sehr begrenzt war.

Zusammenfassend ließen die Kombinationsversuche von NES mit Guanin und Guanin-HCl erkennen, daß die sproßbildende Wirkung dieser beiden Substanzen im gleichzeitigen Zusammenwirken mit hohen NES-Gaben nicht zur Auswirkung kommt. Dagegen wird die — durch die Konzentration der NES bestimmte — Organbildung durch Guanin gefördert, wie Abb. 4 zeigt. Insbesondere erfahren auch die Callusbildung und die Ausbildung der Wurzeln eine deutliche Förderung.

b) NES + Adenin. 0,005; 0,05; 0,5 und 3,0 mg/l NES jeweils kombiniert mit 20, 40, 60, 100 und 120 mg/l Adenin (Abb. 5).

Wie bei Guanin wurde auch hier die Organbildung ausschließlich bestimmt durch die NES, indem je nach NES-Konzentration Sprosse oder Wurzeln gebildet wurden. Die Sprosse waren etwas größer und stabiler als die bei NES (vgl. Adenin allein, S. 297, I., 1c). Die Wurzel- und vor allem die Callusbildung erfuhren eine starke Förderung.

Bei 3,0 mg/l NES wurde eine beträchtliche Menge von losem Callus gebildet, der die Wurzelbildung oft lange hintanhielt. Erst nach Ausbildung einer Korkschicht unter dem Callus wurden zahlreiche Vorwölbungen gebildet, die in erster Linie durch Zellvergrößerungen, weniger durch Zellteilung entstanden. Zwischen diesen Gewebeauswüchsen brachen dann Wurzeln hervor, die unter Bildung zahlreicher Seitenwurzeln normal heranwuchsen. Die bei 5,0 mg/l NES angelegten Wurzeln trockneten am Vegetationspunkt meist ein. Erst viel später erschienen dünne und lang auswachsende Wurzeln mit vielen Seitenwurzeln. Eine spezifische Wirkung der Adenin-Zugaben bestand darin, daß die Ruhezeiten der Segmente sich mit steigenden Adenin-Gaben verkürzten.

Bemerkenswert sind einige Kulturen beider Versuchsserien A und B, die bei 40 und 60 mg/l Adenin mit 0,5 mg/l NES statt Wurzeln Sprosse ausbildeten, jedoch nie beide Organe gleichzeitig trugen:

40 mg/l Adenin + 0,5 mg/l NES:
Serie A 1 Kultur mit 4 Sprossen,
Serie B 1 Kultur mit 3 Sprossen.

60 mg/l Adenin + 0,5 mg/l NES:
Serie A 1 Kultur mit 3 Sprossen,
Serie B 3 Kulturen mit 9 Sprossen (= 3 pro Segment).

Segmente mit beiden Organen traten dagegen in Serie B bei 100 mg/l Adenin + 0,5 mg/l NES auf. Neben gut ausgebildeten Wurzeln trugen 5 von 11 Segmenten noch kräftige Sprosse. Die Wurzelzahl von 12 = 2,4 pro Segment lag gegenüber der entsprechenden Anzahl für 0,5 mg/l NES mit 1,4 pro Segment bedeutend höher, während die Sprosse, 31 = 6,2 pro Segment, sogar der von 100 mg/l Adenin + 0,005 mg/l NES gleichkam. Diese 5 Segmente können aus der ursprünglichen Knolle keine Sproßanlagen mitbekommen haben, sind also nicht als Irrläufer zu bezeichnen, obwohl die restlichen 6 Kulturen keine Spur von Sproßanlagen zeigten. Die hier eventuell vorliegende Möglichkeit, beide Organe an einem Segment durch NES + Adenin-Kombination zu erzielen, müßte noch näher untersucht werden, da im erwähnten Fall die Zahl der auswertbaren Kulturen wegen starken Befalles sehr klein war. Leider stellte sich dieses Ergebnis erst kurz vor Abschluß der Arbeit ein, so daß keine weiteren Ansätze mehr gemacht werden konnten.

Während also die Art der angelegten Organe — abgesehen von den oben erwähnten Ausnahmen — wiederum allein durch die NES-Konzentration bestimmt wurde (Abb. 5), wurde die Zahl der angelegten Organe jedoch durch die Adenin-Zugaben z. T. stark beeinflußt (Abb. 6).

c) NES + Nicotinsäure. Nicotinsäure hat sich an *Cyclamen persicum* deutlich als sproßbildende Verbindung erwiesen. Sie wurde deshalb ebenfalls in den Konzentrationen 20, 40, 60 und 100 mg/l mit 0,005; 0,05; 0,5 und 3,0 mg/l NES kombiniert. Ausnahmslos wurde die Art der angelegten Organe — Sprosse oder Wurzeln — wiederum durch die jeweilige Konzentration der NES bestimmt (Abb. 7). Der Einfluß der Nicotinsäure zeigte sich jedoch darin, daß einmal die Zahl der angelegten Organe je nach Höhe der Nicotinsäure geändert wurde (Abb. 8); zum andern waren jeweils einige Sprosse in der Fortentwicklung stärker gefördert (vgl. S. 298, I., 1d), was als Einfluß der Nicotinsäure zu werten ist.

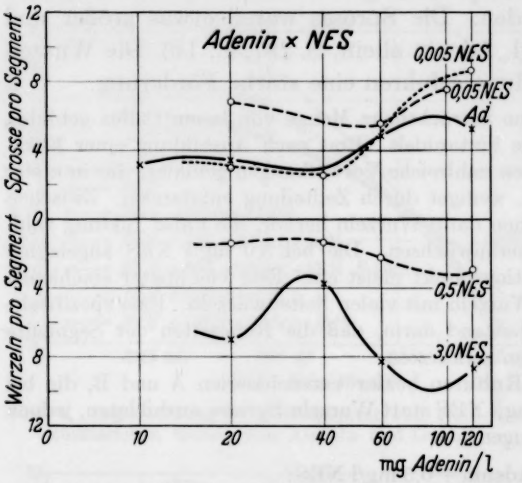


Abb. 6. Organbildung in Abhängigkeit von NES und zusätzlichen Gaben von Adenin; bezogen auf Adenin

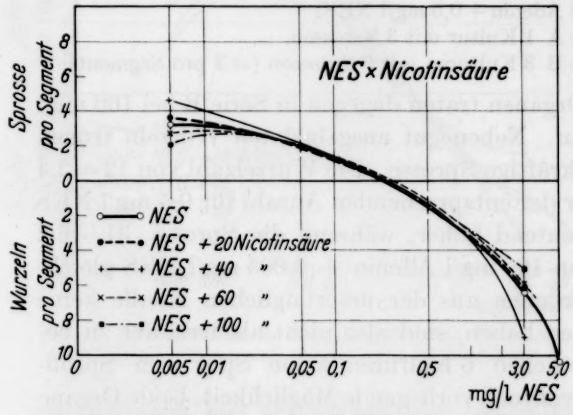


Abb. 7. Organbildung in Abhängigkeit von NES und zusätzlichen Gaben von Nicotinsäure; bezogen auf NES

Fassen wir die Ergebnisse der Kombinationsversuche zwischen NES einerseits, Guanin, Adenin und Nicotinsäure andererseits zusammen, so ergibt sich für alle drei zusätzlich beigegebenen Verbindungen gemeinsam, daß die Art der Reaktion allein durch die NES-Konzentration bestimmt wird; die Zugaben von Guanin, Adenin und Nicotinsäure können diese durch die NES bestimmte Reaktion lediglich in ihrer Stärke (Zahl der Anlagen und Ausbildung der Organe) modifizieren. Eine unabhängige oder auch antagonistische Wirkung der beiden Stoffgruppen war in keinem Fall zu beobachten.

3. Kombinationen der sproßbildenden Substanzen. Nachdem sich in den Kombinationsversuchen von NES in wurzelbildenden Konzentrationen

mit einer sproßinduzierenden Verbindung gezeigt hatte, daß beide Verbindungen nicht unabhängig voneinander wirksam werden können, sollte auch noch die Frage untersucht werden, wie sich eine Kombination verschieden konstituierter sproßinduzierender Stoffe auf die Organbildung, also die Ausbildung von Sprossen, auswirkt und inwieweit auf diese Weise vielleicht noch eine Steigerung der Sproßbildung möglich ist.

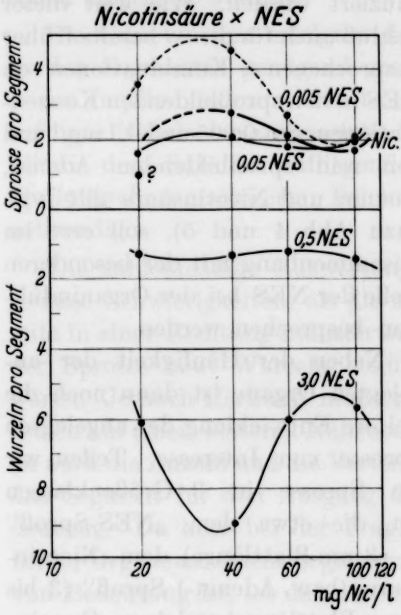


Abb. 8

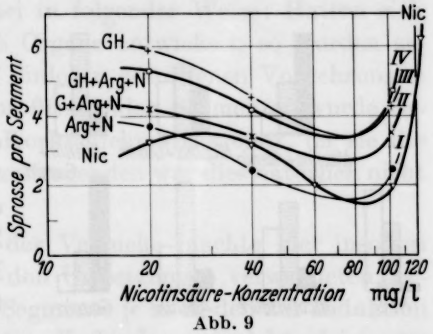


Abb. 9

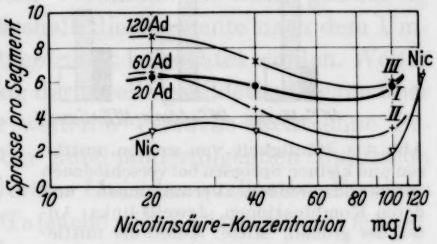


Abb. 10

Abb. 8. Organbildung in Abhängigkeit von NES und zusätzlichen Gaben von Nicotinsäure; bezogen auf Nicotinsäure

Abb. 9. Organbildung in Abhängigkeit von Nicotinsäure und zusätzlichen Gaben von Arginin und Guanin

Abb. 10. Organbildung in Abhängigkeit von Nicotinsäure-Adenin-Kombinationen

Im einzelnen wurden folgende Kombinationen ausgeführt:

1. Nicotinsäure

20, 40, 100 mg/l (Abb. 9) + 100 mg/l Arginin + 100 mg/l NH_4NO_3
+ 80 mg/l Guanin + 100 m/gl Arginin + 100 mg/l NH_4NO_3
+ 1,0 mg/l Guanin-HCl
+ 1,0 mg/l Guanin-HCl + 100 mg/l Arginin + 100 mg/l NH_4NO_3

2. Nicotinsäure

20, 40, 100 mg/l (Abb. 10) + 20, 60, 120 mg/l Adenin

3. Adenin

20, 60, 120 mg/l + 80 mg/l Guanin + 100 mg/l Arginin + 100 mg/l NH_4NO_3
+ 1,0 mg/l Guanin-HCl + 100 mg/l Arginin + 100 mg/l NH_4NO_3

Fassen wir alle vorstehenden Versuche zusammen, so ergibt sich, daß in Kombinationen sproßbildender Stoffe die vereinigten Partner gemeinsam zur Wirkung kommen und sich in ihrer Wirkung verstärken. Sie scheinen sich also gegenseitig in bezug auf die Sproßinduktion weitgehend vertreten zu können. Überdies scheinen sie alle am gleichen Punkt anzugreifen, da die Zahl der bei Kombinationen induzierten Sprosse stets geringer war als die Summe der Sprosse, die durch die jeweils kombinierten Stoffe allein induziert wurden. Wie weit dieser Schluß auch für die — bereits früher besprochenen — Kombinationen von NES in den sproßbildenden Konzentrationen von 0,005 und 0,1 mg/l und den rein sproßbildenden Adenin, Guanin und Nicotinsäure gilt (vgl. dazu Abb. 4 und 5), soll erst im Zusammenhang mit der besonderen Rolle der NES bei der Organinduktion besprochen werden.

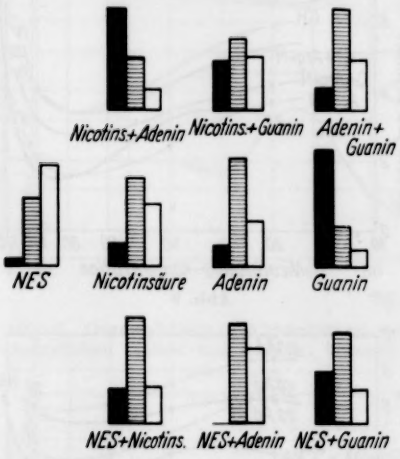


Abb. 11. Häufigkeit von großen, mittleren und kleinen Sprossen bei verschiedenen sproßinduzierenden Verbindungen und deren Kombinationen. Jeweils links: Anteil der großen, Mitte: Anteil der mittleren, rechts: Anteil der kleinen Sprosse

Neben der Häufigkeit der angelegten Organe ist dann noch die weitere Entwicklung der angelegten Sprosse von Interesse. Teilen wir die Sprosse in 3 Größenklassen ein, die etwa dem „NES-Sproß" (1—3 mm Blattlänge), dem „Nicotinsäure- (bzw. Adenin-) Sproß" (3 bis 5 mm Blattlänge) und dem „Guanin-Sproß" (5 mm Blattlänge) entsprechen, und bestimmen jeweils den Anteil der verschiedenen Sproßtypen (klein, mittel, groß) in den einzelnen Versuchen, so ergeben sich die in der Abb. 11 dargestellten Beziehungen. Daraus ist deutlich zu ersehen, daß die einzelnen Verbindungen, die in bezug auf die Anlegung von Sprossen völlig gleichartig wirken, doch in ganz verschiedener Weise die weitere Entwicklung der angelegten Sprosse beeinflussen.

Als optimal für die Sproßbildung stellten sich folgende Kombinationen heraus:

1. 20 bzw. 40 mg/l Nicotinsäure + 120 mg/l Adenin,
2. 0,005 mg/l NES + 120 mg/l Adenin,
3. 20 mg/l Nicotinsäure + 1,0 mg/l Guanin-HCl.

II. Ausbildung von Sprossen und Wurzeln an einem Segment durch Wechsel des Nährbodens

Das Parenchymgewebe von *Cyclamen persicum* bildet bei niederen NES-Gaben Sprosse und bei höheren Konzentrationen Wurzeln aus,

während Guanin, Adenin und Nicotinsäure nur Sprosse hervorrufen. Da es durch Kombination von wurzel- und sproßinduzierenden Stoffen nicht gelungen war, beide Organe gleichzeitig an einem Segment hervorzurufen, sollte nun versucht werden, ob dies nicht in zwei aufeinanderfolgenden Schritten möglich ist, indem einmal zur Wurzelbildung induzierte Segmente auf einen sproßinduzierenden Nährboden oder zur Sproßbildung gebrachte Segmente auf einen wurzelinduzierenden Nährboden umgesetzt werden.

Die Umsetzungen erfolgten dabei in folgender Weise: Hatten sich an den Segmenten genügend große Organe entwickelt, so wurden sie in der Impfkabine unter den beim Einlegen getroffenen Vorkehrungen auf neue Nährböden umgesetzt. Sproßtragenden Segmenten wurde dabei die dem Substrat aufliegende Korkschicht abgetrennt, da sie die Stoffaufnahme erschwerte. Bei wurzeltragenden war dies natürlich nicht notwendig.

Die zahlenmäßige Auswertung der Versuche machte hier insofern gewisse Schwierigkeiten, als die zu den Umsetzungen verwendeten, bereits in einer Richtung induzierten Segmente je nach den zur Induktion der Sprosse bzw. Wurzeln benützten Verbindungen nicht gleichartig waren. Je nach Herkunft mußten deshalb die Segmente nach dem Umsetzen auf einen weiteren Nährboden getrennt betrachtet werden. Weiter ist auch die Anzahl und die Verteilung der bereits gebildeten Organe über das Segment für den Ausgang der weiteren Versuche nicht ohne Bedeutung. Da aber bei der Frage der aufeinanderfolgenden Induktion beider Organe an einem Segment in erster Linie das qualitative Ergebnis von Bedeutung ist, ist diese letzte Tatsache nicht allzu schwerwiegend.

1. Induktion von Sprossen an wurzeltragenden Segmenten. Segmente, die auf Substraten mit 5,0 mg/l NES; 3,0 mg/l NES + 80 mg/l Guanin + 100 mg/l NH_4NO_3 sowie 1,0 mg/l NES + 80 mg/l Guanin + 100 mg/l NH_4NO_3 kräftige Wurzeln ausgebildet hatten, wurden jeweils auf Nährböden ohne Wuchsstoff; mit 0,01 mg/l NES; mit 50 mg/l Nicotinsäure und mit 80 mg/l Guanin + 100 mg/l Arginin + 100 mg/l NH_4NO_3 umgesetzt. Die erste erkennbare Reaktion war eine sehr rasche Dunkelfärbung des Korkes. Weiter wirkte sich die Umsetzung dahin aus, daß sich das Wurzelwachstum von den Kulturen mit 0,01 mg/l NES über die Kulturen ohne Wuchsstoff, mit 50 mg/l Nicotinsäure bis zu den Kulturen mit Guanin immer stärker verlangsamte. Sprosse traten jedoch selbst nach 150 Tagen in keinem Falle auf.

Im Vergleich zu den nicht umgesetzten Segmenten fiel dann auf, daß von 14 Tagen nach der Umsetzung an reichlich Seitenwurzeln angelegt wurden, deren Zahl von wuchsstofffreiem Substrat über 0,01 mg/l NES, 50 mg/l Nicotinsäure zu Guanin stark abnahm. In gleicher Reihenfolge wurden sie jeweils später angelegt. Da in späteren Versuchen diese auffallende Förderung der Seitenwurzelbildung nicht mehr beobachtet wurde, dürfte sie in dem vorliegenden Falle wohl darauf zurück-

zuführen sein, daß bei diesen Versuchen der Nährlösung, im Gegensatz zu allen übrigen Versuchen, die 10fache Menge an Vitamin B_1 und B_6 (statt 0,1 bzw. 0,5 mg/l 1,0 und 5,0 mg/l) zugegeben worden war. Neue Wurzeln wurden überhaupt nicht mehr gebildet; lediglich bereits vorhandene Anlagen wuchsen nach 8—14 Tagen noch aus. Aber auch bei diesen wurde das Wachstum — außer bei 0,01 mg/l NES — stark herabgesetzt. Bei einigen Segmenten, vornehmlich der NES-Guanin-Kulturen, starben etwa nach 30 Tagen einige Wurzeln ab. Auch vorhandener Callus starb meist ab.

Durch Umsetzen der bewurzelten Segmente auf sproßinduzierendes Substrat ist es also nicht möglich, anschließend Sprosse hervorzurufen. Offenbar bleibt der einmal in die Segmente aufgenommene Wuchsstoff in solchen Mengen erhalten, daß der Wuchsstoffgehalt nicht unter den kritischen Wert des Umschlagpunktes absinkt, eine Sproßbildung also nicht möglich ist.

Um nun einerseits zunächst eine Wurzelbildung zu induzieren, andererseits aber den Wuchsstoffvorrat im Segment auf ein Mindestmaß zu beschränken, wurden die Segmente nur kurzfristig mit einer Wuchsstofflösung behandelt.

In sterilen Petrischalen wurden die Segmente zunächst auf trockenem Filtrierpapier ausgelegt, um sie abtrocknen zu lassen und damit das nachteilige Auswaschen der Wundhormone durch die Wuchsstofflösung zu vermeiden. Nach 1 bzw. 3 Tagen wurden sie — ebenfalls in sterilen Petrischalen — auf Filtrierpapier gebracht, das reichlich mit NES-Lösungen der Konzentrationen 0,1; 1,0; 10,0; 100 und 500 mg/l NES getränkt war. Drei Stunden bzw. 4 Tage verblieben sie in den Schalen und wurden dann in die Kulturgefäße mit wuchsstofffreiem Nährboden eingelegt. Vollkommen normal erfolgte die Anlage des Korkes nach 8 Tagen. Die Kontrollen und die Versuche mit 0,1 mg/l NES zeigten dann nach 90 Tagen die ersten Sproßvegetationspunkte. Die 3 Std bzw. 4 Tage mit 1,0 mg/l NES behandelten Segmente wiesen nach 75 und 80 Tagen Vegetationskegel und am 90. bzw. 95. Tag eine geringe Anzahl von Sprossen auf. 10 mg/l NES verlängerten die Ruhezeit bei 3stündiger Behandlung auf 90 Tage und bei 4tägiger Behandlung auf 95—100 Tage. Die Sproßzahl war etwas geringer als bei den vorherigen Kulturen. Die sehr hohen Wuchsstoffgaben 100 mg/l und 500 mg/l brachten bei 1stündiger Einwirkung Wurzeln hervor, die nach 70 bzw. 65 Tagen gut erkennbar waren. Je nach den verwendeten Konzentrationen der NES, die jedoch wegen der kurzen Einwirkungsdauer um den Faktor 10^2 höher lagen, als wenn sie der Nährlösung zugesetzt wurden (vgl. LIBBERT 1956), entstanden also wiederum jeweils entweder nur Sprosse oder nur Wurzeln. Eine nachträgliche Anlegung von Sprossen im letzteren Fall konnte aber auch bei langer Versuchsdauer nicht beobachtet werden.

2. Induktion von Wurzeln an sproßtragenden Segmenten. Im Gegensatz zu den vorigen Versuchen war ein Umsetzen sproßtragender Segmente auf wurzelinduzierendes Substrat erfolgreich; durch Erhöhen der NES-Konzentration konnte stets eine Wurzelbildung angeregt werden, so daß es also auf diesem Wege einer zweimaligen Induktion möglich war, an einem Segment beide Organe zur Entwicklung zu bringen. Nach dem Umsetzen bildeten sproßtragende Segmente bei den gleichen Wuchs-

stoffgaben und -kombinationen (s. unter I., 1a) Callus und Wurzeln aus wie Gewebestücke ohne Vorbehandlung. In manchen Fällen wurden sogar mehr Wurzeln gebildet als der NES-Dosis entsprochen hätte, falls nicht mehr Callus entstand. Gegenüber den frisch eingelegten Segmenten trat die Ausbildung der Wurzeln in der Regel etwas früher ein, und zwar brachen die Wurzeln zunächst nur unter dem alten Kork, meist an den Seitenflächen des Segments, aber auch oben, manchmal unmittelbar neben den bereits vorhandenen Sprossen hervor. Erst später erschienen sie auch auf der vor dem Umsetzen von Kork und Phelloderm befreiten Substratseite, wo nach 8—10 Tagen wieder ein neues Phellogen angelegt worden war. Nach KAUPPERT ist dieses Verhalten nicht überraschend, da die Organanlagen immer ihren Ursprung unter dem Phellogen nehmen, also anscheinend immer erst dann entstehen können, nachdem ein Phellogen vorhanden ist. Ob aus bereits vorhandenen Meristemgruppen, aus denen ohne Umsetzen Sprosse entstanden wären, nach dem Umsetzen Wurzeln hervorgehen können, wurde nicht untersucht; jedoch ist allein schon aus der Zahl der neu entstehenden Wurzeln zu schließen, daß auf jeden Fall nach dem Umsetzen auch wirklich neue Wurzelanlagen gebildet werden.

Die Umsetzung der sproßtragenden Segmente auf ein wurzelinduzierendes Medium mit hoher NES-Konzentration führte aber nicht nur zur Bildung von Wurzeln, sie beeinflußte auch weitgehend die weitere Entwicklung der bereits angelegten Sprosse. Ebenso wie an Nicotiana-Segmenten (SKOOG u. TSUI) wirkte sich auch hier der höhere Wuchsstoffgehalt hemmend auf die Fortentwicklung und Neubildung der Sprosse aus.

Große Blättchen begannen einzutrocknen, und besonders solche Sprosse, die eben zu erkennen waren, starben ab oder wurden stark aufgeblasen. Bei allen bereits vorhandenen Sprossen vergrößerte sich die an sich schon etwas dickere Basis stark und hob die Blättchen etwas an. Weiter oberhalb blieben die Blättchen zunächst unverändert, starben aber dann z. T. ab. Die verdickte Basis blieb erhalten. Daneben wuchsen an manchen Segmenten aus diesen angeschwollenen Sproßbasen kleine Wurzelvegetationspunkte heraus, die sich jedoch nicht weiter entwickelten.

Durch Zugabe von sproßinduzierenden Verbindungen zum Wuchsstoff sollte diese Beeinträchtigung verhindert oder wenigstens abgeschwächt werden. Dazu wurden die Segmente von einem sproßbildenden ersten Substrat jeweils gleichmäßig auf unterschiedliche zweite Nährböden verteilt, die neben wurzelinduzierenden NES-Gaben noch Guanin, Adenin oder Nicotinsäure in verschiedener Konzentration enthielten. Dadurch war einmal die Möglichkeit gegeben, bei gleichem erstem Substrat den Einfluß der verschiedenen wurzelinduzierenden Kombinationen (zweites Substrat) zu beobachten, zum anderen konnte bei gleichem zweitem Substrat jeweils die Wirkung der verschiedenen Nährböden,

auf denen die Sprosse induziert worden waren (erstes Substrat), studiert werden. Dabei zeigte sich, daß die Neuanlage von Wurzeln und die Erhaltung der schon vorher angelegten Sprosse stark von der Zusammensetzung des wurzelbildenden zweiten Substrats abhingen. Zudem machte sich innerhalb der Versuche mit gleichem zweitem Substrat noch ein, allerdings wesentlich geringerer, Einfluß des ersten Substrats bemerkbar. Es überlagerten sich also nach dem Umsetzen die Wirkungen des ersten und des zweiten Substrats in bezug auf die Erhaltung der bereits angelegten Sprosse sowie auf die Neuanlage der Wurzeln. Das erste Substrat (Sproßbildung!) modifizierte aber nur wenig die spezifische Wirkung des wurzelinduzierenden zweiten Substrates, so daß zunächst die einzelnen Versuche mit verschiedenem zweitem Substrat ungeachtet der Herkunft der eingesetzten Segmente betrachtet werden können. Erst danach soll auf den geringeren Einfluß des ersten Substrates noch eingegangen werden.

Segmente aus verschiedenen Versuchen, in denen Sprosse entstanden, wurden auf folgende Substrate umgesetzt:

a) NES. Eine Übertragung sproßtragender Segmente auf Nährböden mit 3,0 bzw. 5,0 mg/l NES führte zur Ausbildung von kräftigen Wurzeln; daneben entstand auch starker Callus, besonders bei 5,0 mg/l NES. Die Wurzeln zeigten ein anhaltendes kräftiges Wachstum; der Callus starb jedoch bei den Kulturen mit 3,0 mg/l NES nach 4 Wochen, bei den Kulturen mit 5,0 mg/l NES nach 6 Wochen ab, und darunter bildete sich Kork. Die vor dem Umsetzen vorhandenen Sprosse stellten kurz nach dem Umsetzen ihr Wachstum ein, und sowohl die kleinen als auch die großen Sprosse begannen bald darauf abzusterben, während die mittelgroßen etwas länger erhalten blieben, später jedoch ebenfalls größtenteils abstarben.

b) NES + Guanin; Guanin-HCl; Arginin. Wurden dem Nährboden zu den 5,0 mg/l NES zusätzlich noch 80 mg/l Guanin + 100 mg/l Arginin + 100 mg/l NH_4NO_3 zugesetzt, so wurde dadurch gegenüber den Kulturen mit 5,0 mg/l NES allein die Callusbildung stark erhöht, die Wurzelzahl jedoch herabgesetzt. Die Sprosse gingen aber wieder an manchen Segmenten völlig zugrunde.

Ein Zusatz von 1,0 mg/l Guanin-HCl + 100 mg/l Arginin zu 5,0 mg/l NES erhöhte dagegen die Callusbildung, und die Sprosse blieben besser erhalten.

Bei Übertragung auf einen Nährboden mit nur 1,0 mg/l NES + 100 mg/l Arginin + 100 mg/l NH_4NO_3 war die Zahl der gut ausgebildeten Wurzeln erheblich verringert, und zahlreiche Sprosse trockneten ein.

c) NES + Nicotinsäure. Bei Übertragung auf Nährböden, die außer NES auch noch Nicotinsäure enthielten, waren die Ergebnisse wesentlich

besser. Bei 1,0 und 3,0 mg/l NES zusammen mit Nicotinsäure blieben vor allem die größeren Sprosse gut erhalten, doch kam es bei 1,0 mg/l NES + 30 mg/l Nicotinsäure nur zu geringer Wurzelbildung. Bei 3,0 mg/l NES + Nicotinsäure war an einigen Segmenten eine kurzzeitige, aber lebhafte Callusbildung zu beobachten.

d) NES + Nicotinsäure + Arginin (+ Guanin). Bei weiterem Zusatz von Arginin bzw. Arginin + Guanin zu NES + Nicotinsäure war die Erhaltung der Sprosse deutlich schlechter. Auf den Böden: 1,0—3,0 mg/l NES + 10—50 mg/l Nicotinsäure + 100 mg/l Arginin + 100 mg/l NH_4NO_3 blieben zwar die großen Sprosse immer gut erhalten, die mittelgroßen und kleinen starben jedoch oftmals ab. Eine zusätzliche Gabe von 1,0 mg/l Guanin hatte lediglich eine etwas vermehrte Callusbildung zur Folge.

e) NES + Nicotinsäure + Adenin. Ein Zusatz von 40 mg/l Adenin zu Nährböden mit 1,0 und 3,0 mg/l NES + 30 mg/l Nicotinsäure schließlich hatte denselben Erfolg wie eine starke Erhöhung der Wuchsstoffkonzentration, indem eine reiche Callusbildung erfolgte und die kleinen Sprosse meist eingingen.

Zusammenfassend läßt sich aus den Versuchen ersehen, daß die sproßhemmende bzw. -schädigende Wirkung hoher NES-Konzentrationen, die zur Induktion von Wurzeln notwendig sind, durch gleichzeitig gebotenes Guanin, Adenin und vor allem Nicotinsäure zwar nicht ganz aufgehoben, aber doch wesentlich verringert werden konnte.

Bei Übertragung von sproßtragenden Segmenten auf wurzelinduzierende Nährböden blieben dabei die Sprosse auf folgenden Nährböden immer besser erhalten:

1. 1,0 mg/l NES + 100 mg/l Arginin + 100 mg/l NH_4NO_3.
2. 3,0 mg/l NES.
3. 3,0 mg/l NES + 30 mg/l Nicotinsäure + 40 mg/l Adenin.
4. 3,0 mg/l NES + 30 mg/l Nicotinsäure + 1,0 mg/l Guanin-HCl + 100 mg/l Arginin + 100 mg/l NH_4NO_3.
5. 1,0 mg/l NES + 10 mg/l Nicotinsäure + 100 mg/l Arginin + 100 mg/l NH_4NO_3.
6. 1,0 mg/l NES + 30 mg/l Nicotinsäure + 40 mg/l Adenin.
7. 1,0 mg/l NES + 30 mg/l Nicotinsäure + 1,0 mg/l Guanin-HCl + 100 mg/l Arginin + 100 mg/l NH_4NO_3.
8. 2,0 mg/l NES + 50 mg/l Nicotinsäure + 100 mg/l Arginin + 100 mg/l NH_4NO_3.
9. 1,0 mg/l NES + 50 mg/l Nicotinsäure + 100 mg/l Arginin + 100 mg/l NH_4NO_3.
10. 1,0 mg/l NES + 30 mg/l Nicotinsäure.

Für die Weiterentwicklung der zuerst angelegten Sprosse war aber nicht nur die Zusammensetzung des zweiten Nährbodens von Wichtigkeit; bei der Übertragung sproßtragender Segmente von verschiedenen Nährböden auf jeweils dasselbe wurzelinduzierende Substrat wirkte sich — wie oben erwähnt — auch die Zusammensetzung des ersten Nährbodens auf die Weiterentwicklung der Sprosse etwas aus. Durchweg in der gleichen Reihenfolge bleiben die auf folgenden Substraten

induzierten Sprosse immer besser erhalten, wenn die Segmente auf ein wurzelbildendes Substrat umgesetzt wurden:

A) NES + Arginin + NH_4NO_3
B) NES
C) Guanin
D) Adenin
E) NES + Guanin
F) NES + Adenin
G) Guanin + Adenin
H) NES + Nicotinsäure
I) Nicotinsäure + Guanin
K) Nicotinsäure + Adenin

Die beste Wirkung zeigte sich aber im allgemeinen dann, wenn dem wurzelinduzierenden zweiten Substrat (1,0—3,0 mg/l NES) die gleichen Stoffe (Guanin, Adenin, Nicotinsäure sowie deren Kombinationen) zugegeben wurden, die auf dem ersten Substrat die Sprosse induziert hatten. In diesem Falle blieben die Sprosse meist sehr gut erhalten, was vielleicht mit GAUTHERET (1953) auf einen geringeren „Schock" beim Umsetzen zurückzuführen ist.

3. Pfropfversuche. Neben der Methode des Umsetzens sproßtragender Segmente auf einen wurzelbildenden Nährboden wurde noch auf ganz andere Weise versucht, das Ziel zu erreichen, gleichzeitig an einem Segment Sprosse und Wurzeln zu erhalten, nämlich durch Pfropfung sproßtragender Segmente auf bewurzelte Gewebestücke. Die mit ihren ebenen Schnittflächen aufeinandergelegten Stücke wurden dabei durch Perlonfäden fest zusammengehalten und die Wundränder mit Wollfett verstrichen. Anschließend wurden die Pfropfungen sofort in ein Torfmull-Sandgemisch übertragen, wo sie ohne Stockung weiterwuchsen. Schon nach 8 Tagen zeigten die Blättchen ein weiteres Wachstum, nach 4—5 Wochen hatten sie eine Größe von 4—5 cm Länge erreicht. Aus dem unteren Segment hatte sich in dieser Zeit ein kräftiger Wurzelballen entwickelt. Das weitere Heranziehen der entweder durch Übertragen auf einen zweiten Nährboden oder durch Pfropfung gewonnenen sproß- und wurzeltragenden Segmente zu ganzen Pflanzen bereitete keine größeren Schwierigkeiten. Sie wurden für einige Wochen in ein Torfmull-Sandgemisch ausgepflanzt und dann je nach Größe in der üblichen Weise wie junge Sämlinge weiterbehandelt. Pilze, Dipterenlarven und Nematoden konnten durch regelmäßiges Gießen mit Chinosol- und E 605-Lösung ferngehalten werden. Ein wöchentliches Düngen mit einem käuflichen Volldünger förderte das Wachstum der Pflanzen.

Ein Jahr nach dem Herausnehmen aus den Kulturgefäßen hatten die Pflanzen eine Knolle von 4—5 cm Durchmesser angelegt, waren gut beblättert und begannen zu blühen. Die gesamte Anzuchtzeit betrug demnach für einmal umgesetzte Segmente $1^3/_4$, für Propfungen $1^1/_2$ Jahre.

Besprechung

Das wesentliche Ergebnis der vorliegenden Untersuchung liegt in den Reaktionen der Segmente auf kombinierte Gaben von wurzelinduzieren-

den Stoffen (NES[1] in höheren Konzentrationen) und sproßinduzierenden Stoffen (Adenin, Guanin bzw. Guanin-HCl und Nicotinsäure). Aus allen Versuchen gemeinsam läßt sich der eindeutige Schluß ziehen, daß bei allen vorstehend geprüften Kombinationen die Art der angelegten Organe ausschließlich durch die NES-Konzentration bestimmt wird, und zwar ausnahmslos in der Weise, wie sie für die jeweils angewandte NES-Konzentration aus den NES-Versuchen allein (d. h. ohne Zugabe von sproßinduzierenden Stoffen) bekannt ist. Vor allem ist dabei die Tatsache von Wichtigkeit, daß der Umschlagpunkt unabhängig von der Menge der zugegebenen sproßinduzierenden Verbindung unverändert derselbe bleibt. Es hat sich niemals gezeigt, daß durch hinreichend große Gaben etwa von Adenin die NES irgendwie „kompensiert" werden könnte. Die Wirkung der zur NES zugegebenen sproßinduzierenden Stoffe bestand lediglich in einer Erhöhung der Organzahl. Dem entspricht auch, daß durch Kombination verschiedener sproßinduzierender Stoffe miteinander stets nur Sprosse entstanden, wobei sich die Wirkungen der jeweils kombinierten Verbindungen — allerdings nie vollständig — addierten.

Dieser vielfach gesicherte Befund scheint seine einfachste Erklärung in folgender Annahme zu finden. Bei der Organbildung haben wir 2 Teilprozesse zu unterscheiden: einmal die Organinduktion, d. h. also die Anlegung einer Meristemgruppe, die nach KAUPPERT für Sprosse und Wurzeln in völlig gleicher Weise erfolgt und durch deren weiteres Wachstum die Organe (Sprosse bzw. Wurzeln) hervorgehen, zweitens die Organdifferenzierung, d. h. die Determinierung der mehr oder weniger neutralen bzw. indifferenten Organanlagen entweder zu Sprossen oder zu Wurzeln.

Eine Induktion von Organanlagen kann durch verschiedene Stoffe erfolgen: NES, Adenin, Guanin, Nicotinsäure und vermutlich noch zahlreiche weitere Verbindungen. Je nach Konzentration dieser Stoffe werden mehr oder weniger Organanlagen induziert. Die Differenzierung dieser Organanlagen erfolgt aber ausnahmslos durch die jeweils in der Knolle bzw. im Gewebestück herrschende NES-Konzentration. Bei NES-Konzentrationen unterhalb des Umschlagpunktes entstehen aus den Organanlagen stets nur Sprosse, bei NES-Konzentrationen oberhalb des Umschlagpunktes entstehen stets nur Wurzeln.

Durch die vorliegenden Versuche noch nicht geklärt ist das Verhalten der Segmente in der unmittelbaren Umgebung des Umschlagpunktes. Wie der Versuch 100 mg/l Adenin + 0,5 mg/l NES anzudeuten scheint, liegt in diesem Bereich der NES-Konzentration eine gewisse Indifferenz bzw. Labilität der Differenzierung vor, wo sowohl Sprosse als auch

[1] α-Naphthylessigsäure.

Wurzeln, unter Umständen sogar an ein und demselben Gewebestück, aus den Organanlagen entstehen können. Ob die geringe Zahl der in diesem Bereich gebildeten Organe darauf zurückzuführen ist, daß nur ebenso wenig Organanlagen gebildet werden, wie zu Organen auswachsen, oder, was ebenso denkbar ist, daß von den in größerer Zahl gebildeten Organanlagen als Folge dieser Labilität nur ein geringer Teil tatsächlich zu Organen auswächst, muß weiteren, speziell auf diesen Punkt gerichteten Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Eine Sonderstellung in diesem System organinduzierender-organdifferenzierender Stoffe nimmt nun die NES ein, und zwar insofern, als sie sowohl organinduzierend als auch organdifferenzierend ist. Daß sie tatsächlich auch als organinduzierend zu bezeichnen ist, ergibt sich eindeutig aus der Tatsache, daß die Zahl der gebildeten Organe — bei niederen Konzentrationen Sprosse, bei hohen Konzentrationen Wurzeln — durch die Konzentration der NES bestimmt wird. Im Bereich der Organbildung kommt der NES also eine doppelte Funktion zu.

Die bisher verwendeten Bezeichnungen „sproßinduzierende Stoffe" für Guanin, Adenin, Nicotinsäure und NES in niederen Konzentrationen und „wurzelinduzierender Stoff" für NES in hohen Konzentrationen wären nach dieser Auffassung also nicht mehr zulässig. Sie wären zu ersetzen durch „organinduzierende" bzw. „organdifferenzierende" Stoffe unter Berücksichtigung der Sonderstellung der NES, die gleichzeitig organinduzierend und organdifferenzierend ist.

In diesem Zusammenhang kann vielleicht auch auf einige Ergebnisse von MAYER an *Pelargonium zonale* verwiesen werden. In 2 Versuchsreihen mit 40 mg/l Adenin + 0,005 mg/l NES bzw. 40 mg/l Adenin + 0,2 mg/l NES wurde — wie bei den Kombinationsversuchen an *Cyclamen persicum* — die Reaktion ebenfalls in erster Linie durch die NES bestimmt.

Die an *Cyclamen persicum* gewonnenen Ergebnisse stehen in einem gewissen Widerspruch zu den Befunden von SKOOG und TSUI (1948 und 1951) an *Nicotiana tabacum*, wo ja eine deutliche antagonistische Wirkung des Adenins gegenüber NES zu beobachten ist. Ob dies in einer verschiedenartigen Reaktionsnorm der beiden Objekte begründet liegt oder, was vielleicht wahrscheinlicher sein dürfte, in der Tatsache, daß im Gegensatz zu diesen Autoren die organbildenden Verbindungen nicht mit autoklaviert wurden, kann zunächst nicht entschieden werden.

Die übrigen Befunde bezüglich der Wirkung von Adenin, Guanin und Nicotinsäure stehen dagegen in vollem Einklang mit den Ergebnissen von MILLER und SKOOG: Guanin steht in seiner Wirkung dem Adenin etwas nach; Nicotinsäure verhält sich ebenso wie Adenin, was auch mit den Befunden von GALSTON an etiolierten Erbsen-Epicotylen in Einklang steht. Arginin + NH_4NO_3 wirken als Stickstoffquellen und Eiweiß-

bausteine neben einer gewissen Förderung der Atmung (POHL) allgemein stimulierend auf die Ausbildung von Sprossen, Wurzeln und Callus.

Von den Versuchen, durch Umsetzen wurzeltragender Segmente auf „sproßinduzierende" Nährböden Sprosse bzw. durch Umsetzen sproßtragender Segmente auf „wurzelinduzierende" Nährböden Wurzeln zu induzieren, war nur der letztere Weg erfolgreich. Das ist nach den übrigen Ergebnissen nicht mehr verwunderlich. Durch die zur Wurzelbildung notwendigen hohen NES-Gaben werden alle nach dem Umsetzen neu entstehenden Organanlagen zu Wurzeln differenziert.

Wenn beim Umsetzen bewurzelter Segmente auf einen sproßinduzierenden Nährboden keine Neubildung von Sprossen erfolgt, so besagt das, daß der hohe NES-Gehalt, der zur Induktion von Wurzeln notwendig war, mindestens während der Versuchszeit erhalten bleibt, ohne unter den Wert des Umschlagpunktes abzusinken.

Aus den Umsetzungsversuchen sproßtragender Segmente auf wurzelinduzierende Nährböden ergaben sich jedoch interessante Beziehungen zwischen den organinduzierenden Stoffen und der Weiterentwicklung der angelegten Sprosse nach dem Umsetzen. Durch die zur Wurzelinduktion notwendigen hohen NES-Gaben werden nämlich die bereits vorhandenen Sprosse in der Mehrzahl der Fälle so stark geschädigt, daß sie absterben. Diese hemmende Wirkung von NES, ebenso auch von IES, wurde auch von anderen Autoren schon beobachtet. Durch Zugabe von Adenin, Guanin und Nicotinsäure zum wurzelinduzierenden Nährboden läßt sich dieser hemmende Einfluß der NES auf die Sprosse jedoch so weit zurückdrängen, daß die angelegten Sprosse sich auch nach dem Umsetzen weiterentwickeln können, ohne daß dadurch aber die Anlegung und das Auswachsen von Wurzeln gehemmt werden.

Die in der vorliegenden Arbeit aufgetretenen Erscheinungen lassen sich durch folgendes Wirkungssystem der verschiedenen Substanzen zwanglos erklären.

Je nach Entwicklungszustand der Cyclamen-Pflanze ist im Knollenparenchym ein Stoffkomplex in verschiedenen Konzentrationen vorhanden, der die Reaktionsfähigkeit (eventuell auch die Abwehrbereitschaft gegen Bakterien) bedingt. Mit diesem Komplex zusammen rufen die organinduzierenden Substanzen NES, Guanin, Adenin, Nicotinsäure und wahrscheinlich noch weitere Substanzen die Anlage von Meristemgruppen hervor, die sowohl zu Sprossen als auch zu Wurzeln auswachsen können. Allein durch die organdifferenzierende Substanz NES werden diese Meristemgruppen je nach Konzentration von NES zu Sprossen (niedere Konzentration) oder Wurzeln (hohe Konzentration) determiniert und zum weiteren Wachstum veranlaßt. Guanin, Adenin und Nicotinsäure greifen darüber hinaus aber noch in die Weiterentwicklung der

sich ausdifferenzierenden Organe ein, indem sowohl die Sprosse als auch die Wurzeln durch diese Stoffe zu kräftigerem Wachstum angeregt werden, als wenn sie nicht geboten werden (Schema, Abb. 12).

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Privatdozent Dr. E. HAUSTEIN, danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und für ständige Förderung und Hilfe. Herrn Professor Dr. J. SCHWEMMLE sei für die Überlassung eines Arbeitsplatzes im Botanischen Institut Erlangen und ebenso wie der Deutschen Forschungsgemeinschaft für Sachbeihilfen Dank gesagt. Für das reichlich zur Verfügung gestellte Pflanzenmaterial danke ich der Firma Robert Mayer, Bamberg.

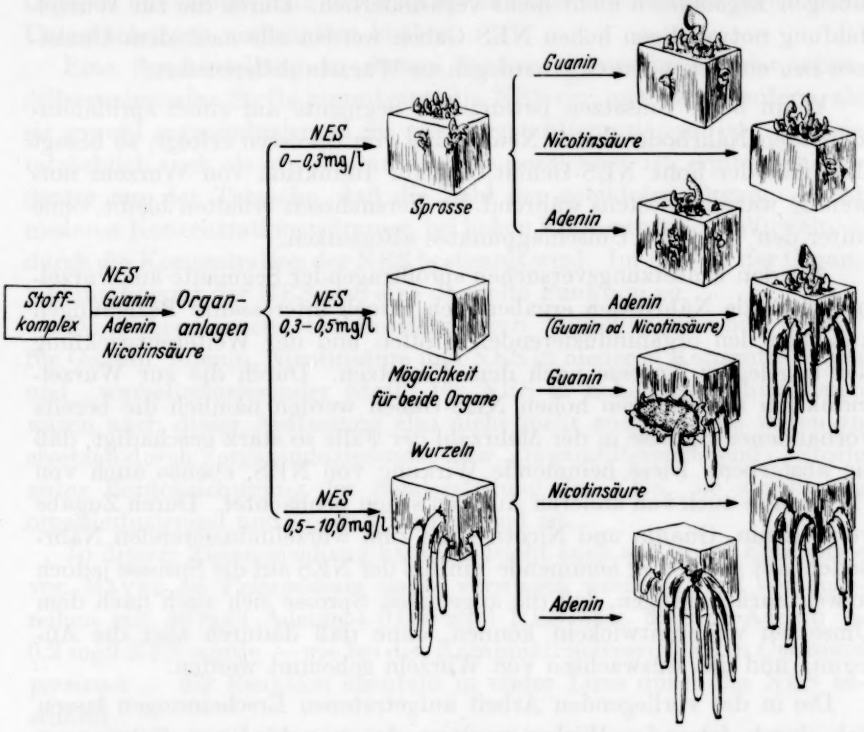


Abb. 12. Schema der Organbildung an Knollensegmenten von *Cyclamen persicum* in Abhängigkeit von NES und Guanin, Adenin, Nicotinsäure

Zusammenfassung

1. Die von MAYER angegebene Methode zur in vitro-Kultur von *Cyclamen*-Knollensegmenten wurde weiter ausgebaut, so daß es möglich ist, die Mehrzahl der Knollen, auch wenn diese von Bakterien befallen sind, in Kultur zu nehmen. Ein Zusatz von 50 mg/l Achromycin ist im allgemeinen ausreichend zur Unterbindung des Bakterienwachstums und ist ohne Einfluß auf die Reaktion der Knollenstücke.

2. Die Reaktionsfähigkeit und der Bakterienbefall der Knollen weisen deutliche jahreszeitliche Schwankungen auf, wobei dem Maximum der Reaktionsfähigkeit im Juni ein Minimum des Bakterienbefalls und umgekehrt dem Minimum der Reaktionsfähigkeit zwischen November und Januar ein Maximum des Bakterienbefalls entspricht.

3. Neben den bereits untersuchten Verbindungen NES, Adenin und Guanin wurde auch die Wirkung von Guanin-HCl und Nicotinsäure untersucht. Beide induzieren Sprosse von jeweils charakteristischer Ausbildung.

4. Kombinationen von Adenin, Guanin und Nicotinsäure induzieren, wie die Verbindungen allein, nur Sprosse. Die für eine Sproßbildung optimale Kombination wurde ermittelt.

5. Bei Kombination von NES mit Guanin, Adenin und Nicotinsäure wird die Art der angelegten Organe (Sprosse oder Wurzeln) ausschließlich durch die jeweilige Konzentration der NES bestimmt. Adenin, Guanin und Nicotinsäure erhöhen lediglich die Zahl der angelegten Organe.

6. Durch Umsetzen bewurzelter Segmente auf sproßbildendes Substrat war eine Induktion von Sprossen nicht möglich; dagegen gelang eine Induktion von Wurzeln an sproßtragenden Segmenten durch Umsetzen auf wurzelinduzierende Substrate mit hohen NES-Konzentrationen von 1,0—3,0 mg/l.

7. Die Übertragung sproßtragender Segmente auf Nährböden mit hohen NES-Konzentrationen führt zu einer starken Hemmung bzw. zum Absterben der angelegten Sprosse. Durch Zugabe von Guanin, Adenin und vor allem Nicotinsäure gelingt es jedoch, diese schädigende Wirkung der hohen NES-Gaben aufzuheben und die Sprosse zu erhalten.

8. Eine Pfropfung von sproßtragenden Segmenten auf wurzeltragende Segmente ist ohne Schwierigkeiten möglich.

9. Die durch Übertragung oder durch Pfropfung erhaltenen Segmente mit Sprossen und Wurzeln entwickeln sich zu normalen Pflanzen.

10. Aus den Ergebnissen der Kombinationsversuche wird geschlossen, daß Guanin, Adenin und Nicotinsäure lediglich organ*induzierende* Verbindungen sind, während NES sowohl organ*induzierend* als auch organ*differenzierend* ist, indem durch niedere NES-Konzentrationen die induzierten Organanlagen zu Sprossen, durch hohe NES-Konzentrationen zu Wurzeln differenziert werden.

Literatur

Barton, L. V., and J. McNabb: Effects of antibiotics on plant growth. Contrib. Boyce Thompson Inst. **17**, 419—434 (1954). — Baumeister, G.: Wuchs- und Hemmstoffe in der Knolle und im Kraut gesunder und abbaukranker Kartoffel-

pflanzen. Planta (Berl.) **38**, 683—741 (1951). — CAMUS, G., et C. LANCE: Action de la penicilline G sur le développement de tissus végétaux cultivés in vitro. Année biol., Ser. III, **31**, 263—279 (1955). — CHAPLIN, S. M.: Inhibition of the growth promoting effect of coconut milk by IAA. Plant Physiol. **32**, Suppl. XIX (1957). — DORE, J.: Studies in the regeneration of horseradish: I. A reexamination of the morphology and anatomy of regeneration. Ann. Bot., N. S. **19**, 127—137 (1955). — DORE, J., and W. T. WILLIAMS: Studies in the regeneration of horseradish: II. Correlation phenomena. Ann. Bot., N. S. **20**, 231—249 (1956). — EKDAHL, I.: The effects of indole-3-acetic acid and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on the elongation rate of root hairs and roots of intact wheat seedlings. Physiol. Plantarum (Cph.) **10**, 112—126 (1957). — FUNKE, H., u. H. SÖDING: Über das Wuchsstoff-Hemmstoffsystem der Haferkoleoptile und der Kartoffelknolle. Planta (Berl.) **36**, 341—370 (1948). — GALSTON, A. W.: Indoleacetic-nicotinic acid interactions in the etiolated pea plants. Plant. Physiol. **24**, 577—586 (1949). — GAUTHERET, R. J.: Recherches anatomiques sur la culture des tissus de rhizomes de Topinambour et d hybrides de Soleil et de Topinambour. Rev. gén. Bot. **60**, 129—173, 193—238 (1953). — Daraus: GAUTHERET, R. J.: Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **24**, 13—47 (1942); Rev. Cytol. et Biol. végét. **6**, 85—180 (1942); KULESCHA, Z.: C. R. Soc. Biol. (Paris) **143**, 354—356 (1949). — HEMBERG, T.: Physiol. Plantarum (Cph.) **6**, 17—20 (1954a). Nach A. LANG, Fortschr. Bot. **16**, 342—376. — Physiol. Plantarum (Cph.) **6**, 312—322 (1954b). Nach A. LANG, Fortschr. Bot. **18**, 289—328. — HOWARD, H. W.: Possible action of phytohormones as root-determinators. Ann. Bot., N. S. **2**, 933—942 (1938). — HOWELL, R. W., and F. SKOOG: Effect of adenine and other substances on growth of excised pisum epicotyls cultured in vitro. Amer. J. Bot. **42**, 356—360 (1955). — KANDLER, O.: Die pflanzliche Organ- und Gewebekultur. Naturw. Rdsch. **1948**/I, 28. — Untersuchungen über die Wirkung von 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure, α-Naphthylessigsäure, Natriumfluorid und Vitamin B_1 auf den Stoffwechsel in vitro kultivierter Maiswurzeln. Planta (Berl.) **42**, 304—348 (1953). — KANDLER, O., u. H. NEUMAIR: Über die Wirkung von 2,4-D auf den Stoffwechsel in vitro kultivierter Spargelsprosse. Flora (Jena) **141**, 16—29 (1954). — KAUPPERT, M.: Histologische Untersuchungen über das Abschlußgewebe und die Organanlage an in vitro kultivierten Segmenten von *Cyclamen persicum*. Z. Bot. **46**, 392—414 (1958). — LIBBERT, E.: Einfluß von Blatt und Wurzel auf die auxininduzierte korrelative Knospenhemmung. Flora (Jena) **142**, 619—628 (1955). — Die Hydrolyse des „Korrelationshemmstoffes" zu Auxin. Planta (Berl.) **46**, 256—271 (1955). — Untersuchungen über die Physiologie der Adventivwurzeln: 1. Wirkungsweise von Rhizokalin. Flora (Jena) **144**, 121—150 (1956). — LINDNER, R. C.: Effects of indoleacetic and naphthylacetic acid on development of buds and roots in horseradish. Bot. Gaz. **100**, 500—527. — LOCKHART, I. A., and R. L. WEINTRAUB: Influence of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid on auxin content of bean seedlings. Amer. J. Bot. **44**, 424—428 (1957). — MAYER, L.: Wachstum und Organbildung an in vitro kultivierten Segmenten von *Pelargonium zonale* und *Cyclamen persicum*. Planta (Berl.) **47**, 401—446 (1956). — MCRAE, D. H., and J. BONNER: Diortho substituted phenoxyacetic acids as antagonists. Plant Physiol. **27**, 834—838 (1952). — MEYER, E.: Über den Wuchsstoff-Hemmstoffgehalt gesunder und abbaukranker Kartoffeln. Planta (Berl.) **38**, 213—232 (1950). MILLER, C., and F. SKOOG: Chemical control of bud formation in tobacco segments. Amer. J. Bot. **40**, 768—773 (1953). — MUZIK, T. J., and H. J. CRUZADO: Differentiation of bean segments in sterile culture with added IAA, 2,4-D and MH. Plant. Physiol. **32**, Suppl. LV (1957). — NILSSON, P. E.: Aseptic cultivation of higher plants. Arch. Mikrobiol. **26**, 285—301 (1957). — OVERBEEK, I. VAN, R. BLONDEAU and V. HORNE: Maleinides as auxin antagonists. Amer. J. Bot. **42**,

205—213 (1955). — Pohl, R.: Das Wuchsstoff- Hemmstoffproblem der höheren Pflanze. Naturwiss. **39**, 1—8 (1952). — Pohl, R., u. B. Tegethoff: Hemmstoff des Maisscutellums, ein Wuchsstoffinaktivator. Naturwiss. **36**, 319—320 (1949). — Schopfer, W. H., u. W. Anker: Wirkung von Sulfonamiden und Antisulfonamiden auf das Wachstum von Pisumwurzeln in steriler Organkultur. Experientia (Basel) **5**, 117—118 (1949). — Seeliger, I.: Über die Kultur isolierter Wurzeln der Robinie. Flora (Jena) **144**, 47—83 (1956). — Skoog, F., and C. Tsui: Chemical control of growth and organ formation in tobacco stem segments and callus cultured in vitro. Amer. J. Bot. **35**, 782—787 (1948). — Growth substances and the formation of buds in plant tissues. In F. Skoog, Plant growth substances, pp. 263 to 285. Wisconsin: University of Wisconsin Press 1951. — Söding, H.: Die Wuchsstofflehre. Stuttgart: Georg Thieme 1952. — Tegethoff, B.: Zur Frage der Wuchsstoffaktivierung im Maisscutellum. Planta (Berl.) **38**, 648—682 (1951). — Thimann, K. V.: The synthetic auxins: Relation between structure and activity. In F. Skoog, Plant growth substances, pp. 21—36. Wisconsin: University of Wisconsin Press 1951. — Daraus: Koepfli, J. B., K. V. Thimann and F. W. Went: J. biol. Chem. **122**, 763—780 (1938). — Torrey, I. G.: Chemical factors limiting lateral root formation in isolated pea roots. Physiol. Plantarum (Cph.) **9**, 370—388 (1956). — Endogenous bud formation by isolated roots of *Convolvulus* grown in vitro. Plant Physiol. **32**, Suppl. LI (1957). — Tso, T. C., and R. N. Jeffren: Effect of antibiotics on the growth and alcaloid production of tobacco plants. Nature (Lond.) **178**, 800—801 (1956). — Vogt, I.: Über den Hemmstoff- und Wuchsstoffgehalt in Getreidewurzeln. Planta (Berl.) **40**, 145—169 (1951). — Vonderbank, H.: Aureomycin und Achromycin. Arzneimittel-Forsch. 6. Beih. (1956). — Voss, H.: Nachweis des inaktiven Wuchsstoffs, eines Wuchsstoffantagonisten und deren wachstumsregulatorische Bedeutung. Planta (Berl.) **30**, 252—285 (1939). — White, P. R.: A handbook of plant tissue culture. New York: J. Catell Press 1943.

Dr. E. Stichel,
Erlangen, Botanisches Institut der Universität

Planta 53, 318—333 (1959)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen

ÜBER DIE KONTROLLE DER MORPHOGENESE UND DIE INDUKTION VON ADVENTIVEMBRYONEN AN GEWEBEKULTUREN AUS KAROTTEN*,**

Von

J. REINERT

Mit 13 Textabbildungen

(Eingegangen am 12. Februar 1959)

Bisher sind für Untersuchungen zur Kontrolle der Morphogenese hauptsächlich frisch isolierte oder relativ kurzfristig kultivierte Gewebe verwendet worden (SKOOG u. TSUI 1948; MILLER u. SKOOG 1953; JACQUIOT 1951, 1955; MAYER 1956; SKOOG u. MILLER 1957). Kallusgewebe, die über mehrere Jahre subkultiviert wurden, erwiesen sich als wenig brauchbar, weil sie in der Regel die Fähigkeit zur Regeneration von Sprossen und auch diejenige zur Wurzelbildung in den meisten Fällen verlieren (SKOOG u. TSUI 1948; GAUTHERET 1955; JACQUIOT 1955). Erst in den letzten beiden Jahren sind Ausnahmen festgestellt worden. So haben TORREY u. SHIGEMURA (1957) mit Stämmen von Kallusgeweben aus Erbsenwurzeln auf einem Medium, das Hefeextrakt enthielt, eine Kontrolle der Wurzelbildung erreicht. SKOOG u. MILLER (1957) berichteten außerdem über noch unveröffentlichte Ergebnisse von TRYON, nach denen die Wurzel- und Sproßbildung an jahrelang subkultivierten Stämmen von Tabakgeweben durch Änderung der Auxin- und der Kinetinkonzentration kontrolliert werden kann. Die Zusammensetzung des dabei verwendeten Mediums ist nicht genauer bekannt.

Im Verlauf von Untersuchungen mit einem Stamm von Karottenkulturen hat es sich jetzt herausgestellt, daß durch den Wechsel verschiedener Faktoren auf einem synthetischen Medium die Kontrolle der Wurzel- und Sproßbildung erreicht werden kann. Es zeigte sich außerdem, daß der Anlage von Sprossen die Induktion von Adventivembryonen vorausgeht. Über diese Ergebnisse ist schon kurz berichtet worden (REINERT 1958, 1, 2). Die vorliegende Arbeit gibt eine eingehendere und in einigen Punkten erweiterte Darstellung dieser Resultate.

---

* Die Bezeichnung Adventivembryonen gilt hier im weitesten Sinne für Embryonen, die aus vegetativen Zellen entstehen.

** Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

Methodik

Untersuchungsmaterial waren Karottenkulturen[1], die 1954 isoliert und nach wenigen Passagen nur dann subkultiviert werden konnten, wenn das bei der Isolierung verwendete Nährmedium nach WHITE (1954) in 0,8%igem Agar durch Kokosnußmilch (KOM, 7%) und hohe β-Indolylessigsäurekonzentrationen (IES, 10^{-5} g/ml) ergänzt wurde (KAUTT u. BÜNNING, persönliche Mitteilung). Für die morphogenetischen Untersuchungen wurden Stücke dieser Stammkulturen mit einem Durchmesser von 5—8 mm auf ein flüssiges Medium übertragen (vgl. Tabelle 1), das für Coniferengewebe entwickelt worden ist und unter Filtrierpapier (Schleicher & Schüll 2043b) geboten wird (REINERT u. WHITE 1956). Die Subkultur aller Gewebe erfolgte im Dunkeln bei einer Temperatur von 21^0 C $\pm$ 1^0 C, das Übertragungsintervall war immer 4 Wochen.

Für die anatomischen Untersuchungen kamen die Gewebe zur Fixierung in ein Gemisch, das sich für die Präparation von Algen bewährt hat (SCHOSER 1956), wurden anschließend in Paraffin eingebettet, geschnitten und mit Hämatoxylin nach WEIGERT gefärbt.

Ergebnisse

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Induktion und die Kontrolle der Wurzel- und, wenn möglich, auch der Sproßbildung an den Karottenkulturen auf einem synthetischen Medium. Damit standen 2 Fragen im Vordergrund: 1. der Ersatz der KOM durch synthetische Verbindungen und 2. die Kontrolle der Morphogenese durch Veränderungen des synthetischen Mediums.

Es war bekannt, daß die Kulturen auf KOM-haltigen Nährböden nur dann in wenigen Fällen Wurzeln bildeten, wenn sie über die normale Übertragungsperiode von 4 Wochen hinaus bis zu 6—7 Wochen auf dem gleichen Nährboden altern konnten und daß Entzug der KOM ohne weitere Ergänzung des Mediums nach WHITE zur Sistierung des Wachstums der Gewebe führte (BERGMANN 1957).

Nach der Übernahme der Kulturen konnte zuerst ermittelt werden, daß Wurzelbildung auf der KOM-haltigen Nährlösung (White + KOM + IES) erst dann auftrat, wenn die ursprünglich vorhandene IES-Konzentration von 10^{-5} g/ml verbraucht war. Sie war dann auch regelmäßig auszulösen, wenn bei normaler Übertragungsperiode das Auxin entzogen wurde. Bei Verwendung von 2,4-D, das in geringerer Konzentration ($5 \cdot 10^{-8}$ g/ml) ein ausreichendes Wachstum gewährleistete, ließ sich die Anlage von Wurzeln nur durch Entzug dieses Auxins, jedoch nicht durch Verlängerung der Übertragungsperiode auslösen. Sprosse bzw. Knospen wurden auf auxinfreien Agarnährböden, die KOM enthielten, nicht angelegt. Das gilt auch für flüssige Nährlösungen der gleichen Zusammensetzung.

Bei den Versuchen zum Ersatz der KOM durch synthetische Verbindungen ist zuerst die Eignung von Kinetin, das nach SKOOG u.

[1] Die Kulturen wurden mir freundlicherweise von Herrn Prof. BÜNNING und Herrn Prof. MELCHERS zur Verfügung gestellt.

MILLER (1953, 1957) das Teilungswachstum anregt, und von Aminosäuren, die nach PARIS u. DUHAMET (1953) ähnlich wirken, überprüft worden. Dabei erwies sich Kinetin (10^{-6} g/ml) als ungeeignet; es hemmte nicht nur das Wachstum, sondern verursachte nach längerer Einwirkung

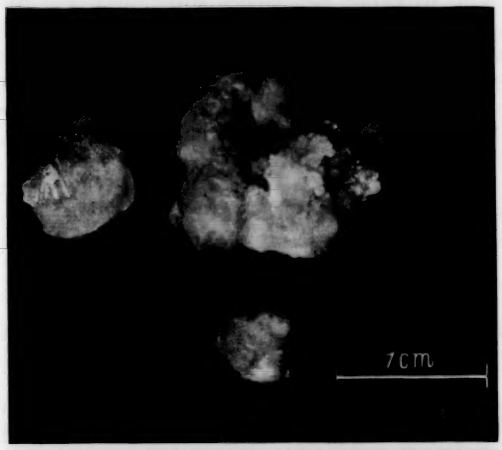


Abb. 1

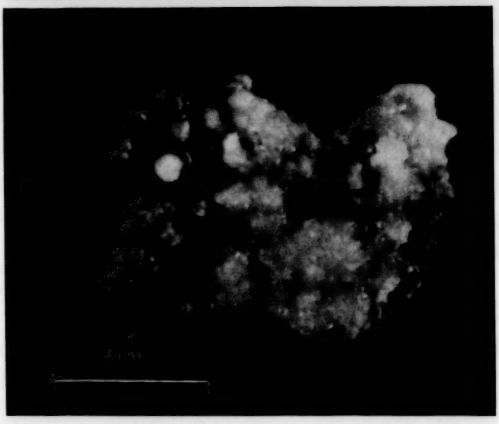


Abb. 2

Abb. 1. Wachstumsformen auf KOM-haltigem (größeres, unregelmäßig gewachsenes Gewebe) und synthetischem Medium (kleinere Gewebekugeln)

Abb. 2. Gewebe mit harten Differenzierungszonen, die sich nach 3monatiger Kultur auf dem synthetischen Medium in Gegenwart von Auxin bilden

Tabelle 1. *Zusammensetzung des synthetischen Mediums*

Es wurden nur p.a.- und reine anorganische bzw. organische Verbindungen der Firmen Merck (Darmstadt) und Nutritional Biochemical Corp. (Ohio) benützt.

A. WHITES *Medium*

B. *Vitamine*

Inosit	10^{-4} g/ml
Cholin	10^{-5} g/ml
Riboflavin	10^{-7} g/ml
Ascorbinsäure	10^{-7} g/ml
Biotin	10^{-8} g/ml
Ca-Panthothenat	10^{-7} g/ml

C. *Purine*

Hypoxanthin	$2{,}5 \cdot 10^{-5}$ g/ml

D. *Aminosäuren + Amide*

L-Lysin	15,6 mg/l
D, L-Methionin	13,0 mg/l
L-Threonin	6,5 mg/l
D, L-Valin	13,0 mg/l
L-Arginin HCl	7,8 mg/l
L-Histidin	2,6 mg/l
L-Prolin	5,0 mg/l
L-Glycin	10,0 mg/l
D, L-Isoleucin	10,4 mg/l
L-Phenylalanin	2,5 mg/l
L-Leucin	15,6 mg/l
L-Tryptophan	4,0 mg/l
L-Cystin	1,5 mg/l
L-Glutaminsäure	14,0 mg/l
L-Asparaginsäure	6,0mg/l
L-Tyrosin	40,0 mg/l
L-Glutamin	50,0 mg/l
L-Asparagin	20,0 mg/l

E. *Auxine*

IES	10^{-5} g/ml
oder 2,4-D	$5 \cdot 10^{-8}$ g/ml

das Absterben der Kulturen. Besser geeignet waren Kombinationen von Adenin bzw. Hypoxanthin mit Aminosäuren (Tabelle 1, Gruppe C und D), nach deren Zusatz zur Nährlösung nach WHITE und hoher Auxinkonzentration (IES, 10^{-5} g/ml) eine ausreichende Wachstumsgeschwindigkeit — etwa 50—60% derjenigen auf KOM-haltigem Medium zu beobachten war. Entzug des Auxins führte aber unter diesen Bedingungen innerhalb von 6 Monaten nur zur Wurzelbildung.

Ein anderes Bild ergab sich dagegen auf dem vollständigen synthetischen Medium (vgl. Tabelle 1, A—E). Die Wachstumsgeschwindigkeit der Gewebe war auch auf diesem Medium etwas verlangsamt, aber im Gegensatz zu den Versuchen mit den anderen Nährlösungen kam es nach 2—3 Monaten zu einer starken Veränderung der Wuchsform der Kulturen, und aus den unregelmäßig geformten Kallusgeweben, die typisch für KOM-haltige Nährlösungen sind, entstanden stetig wachsende Gewebekugeln (Abb. 1). Nach dieser Veränderung der Form der Kulturen, also in der Regel nach 3 Monaten Wachstumszeit auf dem auxinhaltigen, synthetischen Medium, setzten weitere Differenzierungsprozesse ein, die zur Umwandlung mehr oder weniger großer Zonen der Kulturen in harte Kapseln führten (Abb. 2). In extremen Fällen war bei zu weit gehender Differenzierung kein Wachstum mehr möglich. Dieser, in Hinsicht auf eine weitere Subkultur nachteilige Effekt ließ sich verhindern, wenn Teile der differenzierten Zonen bei der monatlichen Übertragung entfernt wurden, so daß stets eine große Region von teilungsfähigem parenchymatischem Gewebe erhalten blieb.

a

b

Abb. 3a u. b. Sproß- und Wurzelbildung nach Auxinentzug. a Einzelner größerer Sproß. b Gruppe kleinerer Sprosse, die sich aus Adventivembryonen entwickeln

Ähnlich, wie das zu Anfang für die Kulturen auf den KOM-haltigen Nährböden und auf den Kombinationen mit Aminosäuren und Purinen beschrieben worden ist, führte Auxinentzug auch auf der vollständigen synthetischen Nährlösung (Tabelle 1, A—D) zuerst zur Wurzelbildung. Nach längerem Wachstum (3—5 Monate) und nach Bildung harter

Differenzierungszonen in Gegenwart von Auxin wurden auf diesem Medium (Tabelle 1, A—E) an Stelle der Wurzeln aber in zunehmendem Maße Sprosse angelegt (vgl. Abb. 3a und b). Diese Umstimmung der Organbildung ließ sich unter den gegebenen Versuchsbedingungen regelmäßig induzieren. Tabelle 2 gibt eine Übersicht über die Häufigkeit der Wurzel- und Sproßbildung bei einem Teil der Versuche. Verkürzung der Wachstumszeit von 3 Monaten auf der auxinhaltigen synthetischen Nährlösung führte dagegen zu einer verstärkten Anlage von Wurzeln, die im Extremfall, bei direkter Übertragung von KOM-haltigem auf auxinfreies synthetisches Medium ausschließlich und sehr schnell bei allen Kulturen einsetzte (Abbildung 4).

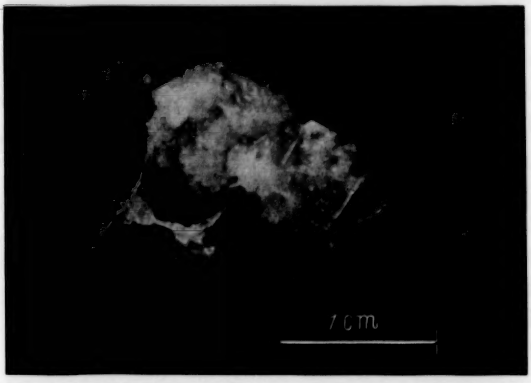


Abb. 4. Bildung von Adventivwurzeln nach direkter Übertragung auf auxinfreies synthetisches Medium

Die anatomische Untersuchung der an den Karottengeweben induzierten Wurzeln und Sprosse hat nur bei letzteren zu überraschenden Ergebnissen geführt. Die Wurzeln waren normal gebaut und konnten isoliert und in vitro kultiviert werden. Sie entstehen als typische Adventivwurzeln aus Gewebezonen, die sich durch starkes Teilungswachstum auszeichnen (Abb. 5). Bemerkenswert ist noch ihr geotropisches Verhalten. Während ein Teil

Tabelle 2. *Organbildung an Karottengeweben nach 3monatiger Kultur auf auxinfreier synthetischer Nährlösung* (Tabelle 1)

Vorkultur in Gegenwart von Auxin für 3 Monate, dann Halbierung und weitere Subkultur für 3 Monate auf auxinfreiem bzw. auxinhaltigem Medium (Kontrolle). Die Kontrollen bildeten weder Wurzeln noch Knospen.

	Versuch		
	1	2	3
Zahl der Kulturen	14	8	14
Zahl der nur wurzelbildenden Kulturen	2	2	4
Zahl der knospenbildenden Kulturen	12	6	13

positiv geotropisch reagierte, verhielt sich der andere Teil ageotropisch, gleicht also in dieser Eigenschaft Seitenwurzeln zweiter Ordnung. Von den Sprossen wurde der größere Typ (Abb. 3a) sehr selten gebildet; er

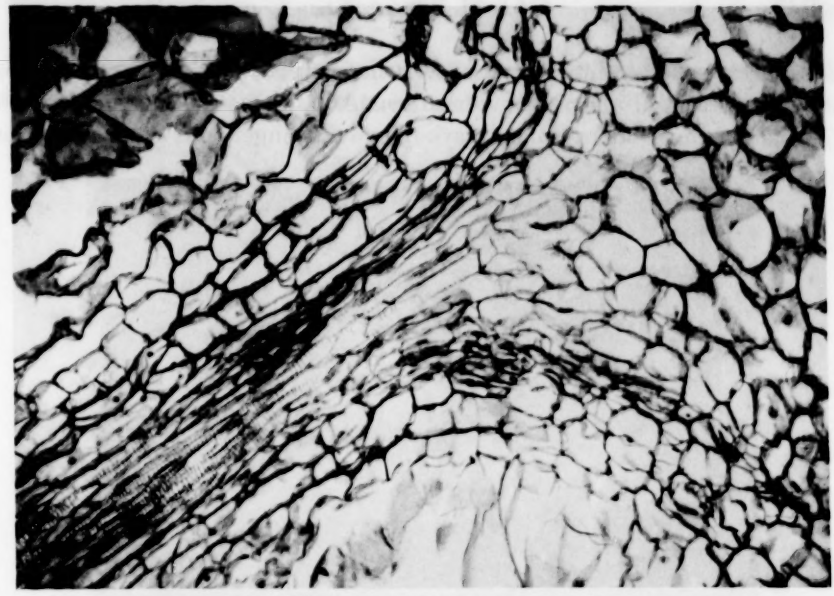
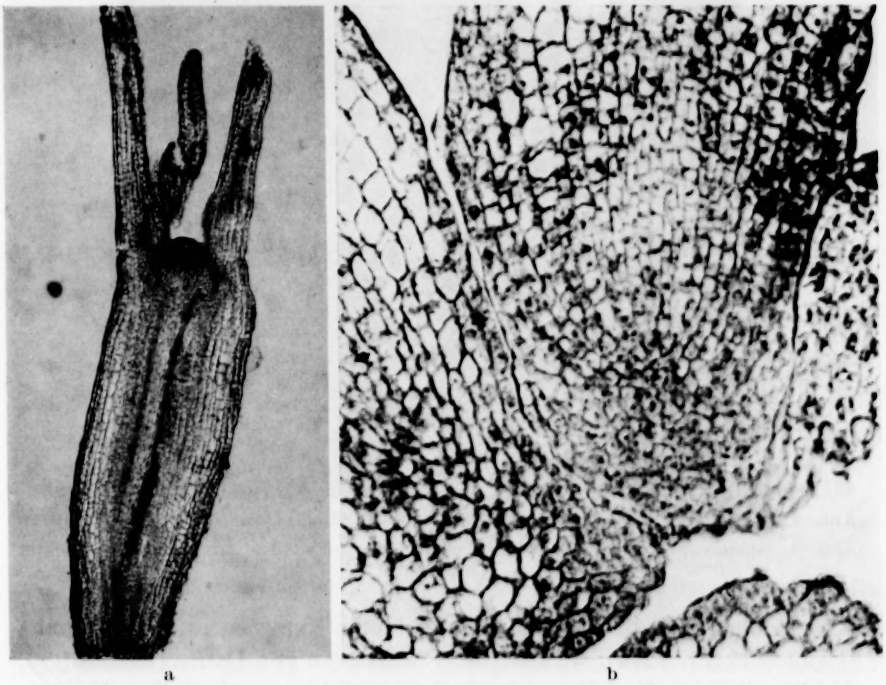


Abb. 5. Schnitt durch die Übergangsstelle zwischen der Adventivwurzel und der angrenzenden Wachstumszone (× 200)



a b

Abb. 6a u. b. a Medianer Längsschnitt durch einen Adventivembryo mit gespaltenen Kotyledonen (die äußerste Spitze des Wurzelpols läßt sich in der Regel nicht unbeschädigt aus dem umgebenden Gewebe herauslösen) (× 55). b Schnitt durch eine Gruppe von Embryonen; dabei wurde eine Wurzelspitze median getroffen (× 130)

ist bis jetzt noch nicht genauer untersucht worden. Die kleineren Sprosse, die in etwa 95% aller Fälle vorkamen (Abb. 3b), entsprachen dagegen — bis auf mehr oder weniger starke Verwachsungen und Spaltungen der

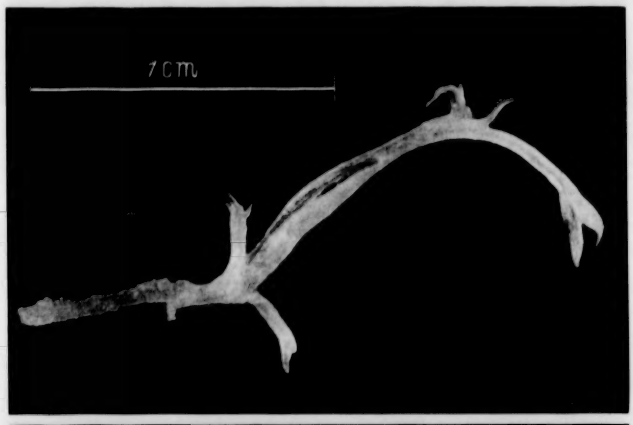


Abb. 7

Abb. 8

Abb. 7. Junge Karottenpflanze mit Hauptwurzel, Kotyledonen und Primärblättern

Abb. 8. Späteres Entwicklungsstadium einer Karottenpflanze mit bereits verdickter Hauptwurzel

Kotyledonen, die auch spontan an keimenden Karotten auftreten können (Parrot 1942) — normal bipolaren Embryonen von Daucus carota (vgl. Abb. 6a und b). Ihre Entwicklung kam auf dem synthetischen Medium nach einer Streckung des Hypokotyls zum Stillstand. Sie konnte dann

aber durch erneuten Zusatz von KOM wieder gefördert werden, so daß vollständige Pflanzen mit Blättern und verdickten Hauptwurzeln ent-

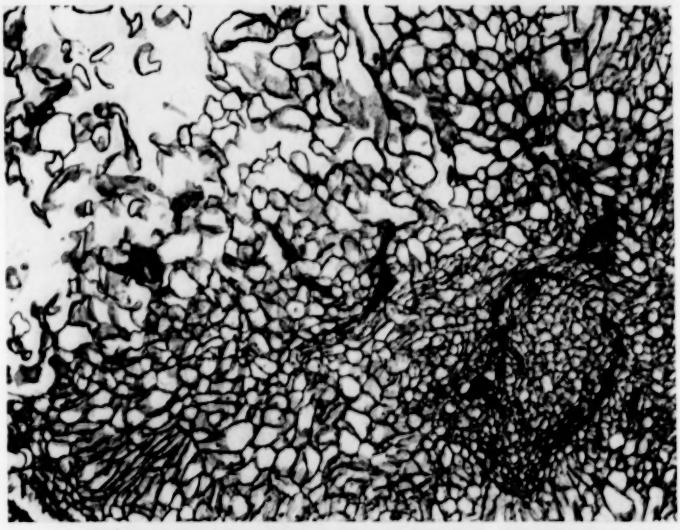


Abb. 9

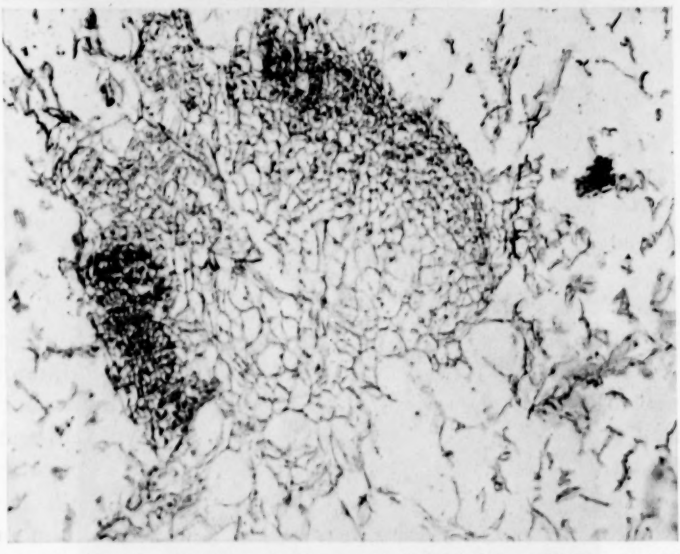


Abb. 10

Abb. 9. Struktur der Stammkulturen auf KOM-haltigem Medium (× 78)

Abb. 10. Struktur der Kultur nach 6 Wochen Wachstumszeit auf der synthetischen Nährlösung (× 78)

standen (Abb. 7 und 8). Die bei den abgebildeten späten Entwicklungsstadien noch vorhandenen Kotyledonen sind ein eindeutiger Hinweis auf die Herkunft dieser „Karotten".

a

b

Abb. 11a u. b. a Differenzierungszone mit „Proembryonen" nach mehr als 3monatiger Wachstumszeit auf dem synthetischen Medium (× 180). b Ausschnitt aus Abb. 11a mit einer Gruppe von „Proembryonen" (× 900)

Zur Feststellung der anatomischen Eigenschaften der Kulturen auf den verschiedenen Nährmedien sind bis jetzt die Stammkulturen, der kugelförmige Wachstumstyp und differenzierte Gewebe untersucht worden, die für 2 Jahre (September 1956 bis September 1958) auf dem auxinhaltigen synthetischen Medium kultiviert worden sind. Dabei zeigte es sich, daß den verschiedenen Wachstumstypen der Kulturen starke Unterschiede im anatomischen Bau entsprechen. Außerdem ergaben sich

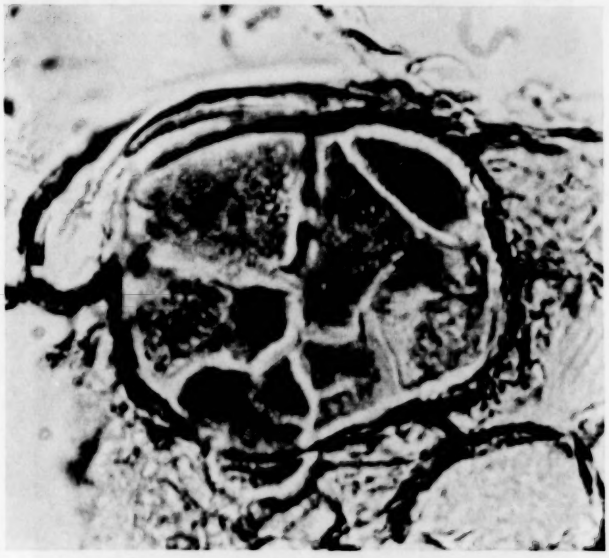
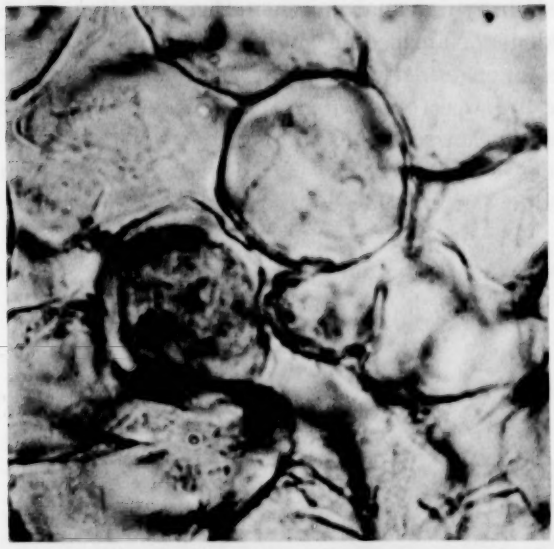
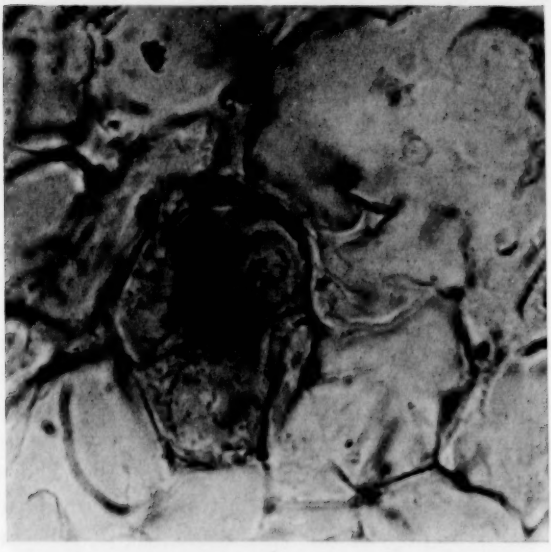


Abb. 12. Von einer starken Membran umgebene Gruppe plasmahaltiger Zellen im Parenchym der Kulturen

bei der Untersuchung der Gewebe mit harten Differenzierungszonen Ansatzpunkte zur Beurteilung der Embryoentwicklung. Bei der langen Induktionszeit (2 Jahre) sind aber nur nebeneinander vorliegende Entwicklungsstadien erfaßt worden; der im folgenden skizzierte Verlauf der Entwicklung ist deshalb als Arbeitshypothese zu betrachten. Aus den Kulturen, die — bis auf geringe Dissoziationserscheinungen — auf dem Medium mit KOM homogen wachsen und nur die bekannten Zentren der Zellteilung sowie tracheidale Elemente enthalten (Abb. 9), entstehen Gewebe, bei denen zwischen vacuolisierten parenchymatischen Zellen stark plasmahaltige Zellbereiche liegen. Die Zellwände des Parenchyms sind dann dünner und die Dissoziation der äußeren Zellschichten stärker (Abb. 10). Später treten in den Randzonen Regionen mit plasmareichen Zellen auf, die von einer dicken und von den anderen Zellwänden deutlich



a



b

Abb. 13a—c. Ein-, Zwei- und Vierzellstadien, aus denen sich wahrscheinlich die Differenzierungszonen aus Abb. 11 und 12 entwickeln

zu unterscheidenden verstärkten Membran umgeben sind; an ihnen entstehen Strukturen, die Proembryonen entsprechen (Abb. 11a und b). Ähnliche Zellkomplexe, an denen sich aber keine typischen „Pro-

embryonen" bilden, kommen im Innern der Gewebe vor; sie haben ebenfalls die erwähnte starke Membran (Abb. 12). Die Bildung dieser Zonen geht sehr wahrscheinlich auf einzelne Zellen zurück, die hauptsächlich im Innern der Gewebe zu finden sind. Sie sind ohne Schwierigkeit zuerst auf Grund ihres hohen Plasmagehaltes und später durch ihre starke Membran von den benachbarten Zellen zu unterscheiden und teilen sich ähnlich wie das für frühe Stadien von Regenerationsprozessen

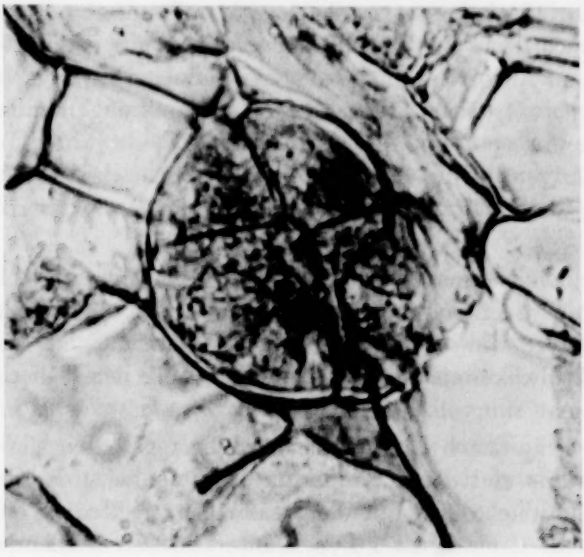


Abb. 13 c

und für Eizellen bekannt ist (Abb. 13 a—c; Abb. 12), d. h. mit zunehmender Zahl nimmt das Volumen der Zellen ab. Fadenförmige 4-Zellstadien, die typisch für *Daucus carota* (Borthwick 1931) und andere Umbelliferen (Souèges 1955) sind, konnten bis jetzt nicht festgestellt werden.

Diskussion

Durch die vorliegenden Untersuchungen ist der Beweis erbracht, daß bei den verwendeten, seit Jahren kultivierten Karottenkulturen auf einem synthetischen Medium die scheinbar nicht mehr vorhandene Fähigkeit zur Anlage von Sprossen wieder hergestellt und sowohl die Wurzel- als auch die Sproßbildung und die ihnen zugrunde liegenden Differenzierungsvorgänge durch Veränderung des Mediums kontrolliert und getrennt untersucht werden können. Wichtiger ist noch der Befund über die Herkunft der Sprosse, denn sie stammen fast ausschließlich

aus Adventivembryonen, deren Entstehung derjenigen ähnlich ist oder entspricht, wie sie unter Beteiligung vegetativer Zellen in der Nähe von Eizellen beobachtet worden ist (Haberland 1922). Ähnliche Neubildungen von Embryonen sind auch bei der Regeneration sehr junger, experimentell geschädigter Embryostadien festgestellt worden (Haccius 1957), sie konnten bisher jedoch nicht an Gewebekulturen aus vegetativen Organen induziert werden. Sehr interessant sind in diesem Zusammenhang Befunde von Stewart u. Pollard (1958), die etwa gleichzeitig mit unseren Resultaten veröffentlicht wurden. Sie berichteten ebenfalls über die Regeneration vollständiger Karotten an Gewebekulturen, allerdings auf einem KOM-haltigen Medium. Nach ihrer Beschreibung handelt es sich aber dabei um spontane Regenerationen, die mit der Bildung von typischen Adventivwurzeln beginnen, an denen sich dann anschließend der Sproß und damit die ganze Pflanze mit verdickter Hauptwurzel entwickelt.

Verschiedene Punkte, welche die Entwicklungsgeschichte der Adventivembryonen betreffen, sind schon im vorhergehenden Abschnitt erörtert worden; eine weitere Diskussion der bis jetzt erwogenen Möglichkeiten ist — ohne Ergänzung der bisherigen Unterlagen — nicht sinnvoll.

Bei der Frage nach den Ursachen der festgestellten Veränderungen des Wachstums und der Organbildung sind zunächst die Gewebetypen zu beachten, welche sich auf den verschiedenen Medien entwickelten. Dabei können eindeutig zwei Typen unterschieden werden: der Kokosnußmilchtyp, der nur Wurzeln bildete, und der zur Anlage von Wurzeln, Embryonen und Sprossen befähigte Typ auf den vollsynthetischen Medien. Als Ursache für die Umstimmung des einen zum anderen Typ können physikalische Faktoren — Licht, Wechsel zwischen Agar und flüssigtem Medium —, die nach White (1939) und Skoog (1944) bei Tabakkulturen fördernd wirken, als unwesentlich betrachtet werden, denn die Kulturen wurden immer im Dunkeln gehalten, und es war nicht möglich, durch Wechsel der Konsistenz der Nährböden ähnliche Effekte auszulösen wie durch Zusatz bzw. Entzug von Wuchs- und Nährstoffen.

Die Rolle chemischer Faktoren läßt sich nach den bisherigen Ergebnissen nur hinsichtlich der KOM und des Auxins beurteilen. Der Umschlag der Wachstumsform vollzieht sich nach der Fortnahme der KOM, wenn Auxin vorhanden ist. Fest steht außerdem auch die Beteiligung verschiedener Komponenten des synthetischen Mediums (Aminosäuren, Vitamine, Purine). Es bleibt jedoch noch zu entscheiden,

ob es sich dabei um spezifische Effekte einzelner Verbindungen oder um Wirkungen ganzer Gruppen handelt.

Zu untersuchen ist weiterhin, wie es in dem Gewebetyp auf der synthetischen Nährlösung zu der festgestellten Anlage von Adventivembryonen kommt. Auch in diesem Falle steht nur die Wirkung des Auxins fest. Unter den gegebenen Versuchsbedingungen muß Auxin für die Differenzierung früher Embryostadien vorhanden sein, während deren Weiterentwicklung eindeutig durch IES oder 2,4-D gehemmt wird. Die KOM ist ziemlich sicher nicht direkt an der Anlage der Adventivembryonen beteiligt, da diese auch an Kulturen vorkommen, die über 3 Jahre ohne diese komplexe Komponente auf dem synthetischen Medium subkultiviert worden sind. Der ebenfalls nachgewiesene fördernde Effekt der KOM auf die Weiterentwicklung des schon gestreckten Sprosses steht offenbar nicht in Zusammenhang mit der Anlage der Embryonen und betrifft nur bestimmte späte Phasen des Sproßwachstums.

Für die Bildung von Adventivwurzeln gelten andere Bedingungen. Sie tritt bei allen überprüften Nährlösungen auf und eine Umstimmung der Gewebe, wie sie für die Embryobildung notwendig ist, dürfte also nicht erforderlich sein. Entscheidend ist auch hier wieder Auxin, das die Organisation zur Wurzel unterdrückt.

Aus der bisher vorliegenden Literatur über die kontrollierte und spontane Organbildung an Gewebekulturen lassen sich keine Schlüsse auf eine generell wirksames auslösendes Prinzip ziehen. Während Skoog und seine Mitarbeiter eine Wechselwirkung zwischen Auxin und Purinkörpern (Kinetin, Adenin) als bestimmend für die Organogenese hinstellen, betonen Torrey u. Shigemura eine ähnliche Relation von Auxin zu Hefeextrakt. Nun war aber bei unseren Karottengeweben Kinetin nicht nur unwirksam, sondern erwies sich sogar als schädigend. Andererseits ist eine direkte Beeinflussung der Wurzel- und Sproßbildung durch KOM, die dem Hefeextrakt als komplexe Komponente entspricht, nach unseren Ergebnissen unwahrscheinlich. Stewart u. Pollard vermuten jedoch, daß die KOM über die Beeinflussung der Proteinsynthese wesentlich an der von ihnen beobachteten spontanen Organbildung beteiligt ist. Diese Vielfalt von Möglichkeiten spricht sicher gegen die Beteiligung spezifischer organbildender Substanzen im Sinne der ursprünglichen Definition der Kaline an der Organogenese und für ein komplexes System, wie es am eindeutigsten von Skoog und seinen Mitarbeitern nachgewiesen wurde. Wahrscheinlich dürfte aber auch das Skoogsche System nur ein spezieller Fall von verschiedenen möglichen sein.

Summary

A strain of callus tissue from *Daucus carota*, which for years formed only roots on a coconut milk containing nutrient, could be induced to form shoots by transfer onto a synthetic medium. Formation of roots and shoots is controllable by manipulation of this medium. While most of the roots develop as typical monopolar organs, the shoots arise from bipolar adventitious embryos which develop in the callus to complete plantlets. The course of development of these "embryos" and the rôle of various components of the synthetic medium in the organogenesis are discussed.

Literatur

Bergmann, L.: Der Einfluß von Gibberellinsäure auf das Wachstum von Gewebekulturen des Callus von Daucus carota. Planta (Berl.) **51**, 70—73 (1958). — Borthwick, H. A.: Development of the macrogametophyte and embryo of Daucus carota. Bot. Gaz. **92**, 23—44 (1931). — Gautheret, R. J.: Sur la variabilité des propriétés physiologiques des cultures végétaux. Année Biol. **31**, 345—371 (1955). — Haberland, G.: Die Vorstufen und Ursachen der Adventivembryonie. S.-B. preuß. Akad. Wiss. **25**, 386—406 (1922). — Haccius, B.: Regenerationserscheinungen an pflanzlichen Embryonen nach Behandlung mit antimitotisch wirksamen Substanzen. Beitr. Biol. Pflanzen **34**, 3—18 (1957). — Jacquiot, C.: Action du méso-inositol et de l'adénine sur la formation des bourgeons par le tissu cambial d'Ulmus campestris cultivé in vitro. C. R. Acad. Sci. (Paris) **233**, 815—817 (1951). — Sur le rôle des correlations d'inhibition dans les phénomènes d'organogénèse observés chez le tissu cambial, cultivé in vitro, de certains arbres. Incidences sur les problèmes du bouturage. C. R. Acad. Sci. (Paris) **241**, 1064—1065 (1955). — Mayer, L.: Wachstum und Organbildung an in vitro kultivierten Segmenten von Pelargonium zonale und Cyclamen persicum. Planta (Berl.) **47**, 401—446 (1956). — Miller, C. O., and F. Skoog.: Chemical control of bud formation in tobacco stem segments. Amer. J. Bot. **40**, 768—773 (1953). — Paris, D., et L. M. Duhamet: Action d'un mélange d'acides aminés et de vitamines sur la prolifération des cultures de Crown gall de Scorsonère; comparaison avec l'action du lait du Coco. C. R. Acad. Sci. (Paris) **236**, 1690—1692 (1953). — Parrot, A.: Étude morphologique et anatomique d'une curieuse plantule de carotte. Bull. Soc. bot. France **89**, 100—102 (1942). — Reinert, J.: (1) Morphogenese und ihre Kontrolle an Gewebekulturen aus Carotten. Naturwiss. **45**, 244—245 (1958). — (2) Untersuchungen über die Morphogenese an Gewebekulturen; vorgetragen auf der Tagung der dtsch. bot. Gesellschaft, Kiel, September 1958; vgl. Ber. dtsch. bot. Ges. **71** (im Druck). — Reinert, J., and P. R. White: The cultivation in vitro of tumor tissue and normal tissue of Picea glauca. Physiol. Plantarum (Cph) **9**, 177—189 (1956). — Schoser, G.: Über die Regeneration bei Cladophoraceen. Protoplasma **57**, 103—134 (1956). — Skoog, F.: Growth and organ formation in tobacco tissue cultures. Amer. J. Bot. **31**, 19—24 (1944). — Skoog, F., and C. O. Miller: Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. Symp. Soc. exp. Biol. **11**, 118—131 (1957). — Skoog, F., and C. Tsui: Chemical control of growth and bud formation in tobacco stem segments and callus cultures in vitro. Amer. J. Bot. **35**, 782—787 (1948). — Souéges, R.: Embryogénie des ombellifères. Développement de l'embryon chez Eryngium amethystinum.

C. R. Acad. Sci. (Paris) **182**, 1596—1598 (1955). — STEWART, F. C., and J. K. POLLARD: ^{14}C-Proline and hydroxyproline in the protein metabolism of plants — an episode in the relation of metabolism to cell growth and morphogenesis. Nature (Lond.) **182**, 828—832 (1958). — TORREY, J. G., and Y. SHIGEMURA: Growth and controlled morphogenesis in pea root callus tissue grown in liquid media. Amer. J. Bot. **44**, 334—344 (1957). — WHITE, P. R.: Controlled differentiation in a plant tissue culture. Bull. Torrey bot. Club **66**, 507—513 (1939). — The cultivation of animal and plant cells. New York: The Ronald press 1954.

Prof. Dr. J. REINERT,
Botanisches Institut der Universität, Tübingen, Wilhelmstr. 5

Planta 53, 334—338 (1959)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen

ÜBER BEZIEHUNGEN ZWISCHEN ANTHOCYANBILDUNG UND STICKSTOFFUMSATZ

Von

FRANK EBERHARDT†

Aus dem Nachlaß zusammengestellt von

WOLFGANG HAUPT*

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 10. Februar 1959)

In einer nachgelassenen Arbeit hatte PAECH (1957) gefunden, daß die Carotinoidbildung unter geeigneten Bedingungen gehemmt werden kann, wenn die als Ausgangsmaterial dienenden C_2- und C_3-Intermediärverbindungen des Kohlenhydratstoffwechsels anderen, „wichtigeren" Synthesen zugeführt werden; sofern nämlich der zur Verfügung stehende Stickstoff begrenzender Faktor der Proteinsynthese ist, kann diese (als Vorgang des „primären" Stoffwechsels) durch Zugabe von Harnstoff gefördert werden und dadurch der Synthese „sekundärer" Stoffe, wie etwa der Carotinoide, die C-Quelle weitgehend entziehen. Wenn diese Erscheinung, wie PAECH vermutete, eine allgemeine Gesetzmäßigkeit des pflanzlichen Stoffwechsels ausdrückt, so ist zu erwarten, daß sich für andere Bereiche des sekundären Stoffwechsels vergleichbare Beziehungen auffinden lassen.

* Kurz vor seinem plötzlichen Tod im August 1958 deutete FRANK EBERHARDT an, daß die Experimente, die dieser Darstellung zugrunde liegen, nun zu einem gewissen Abschluß gekommen seien und demnächst veröffentlicht werden sollten. Ein Entwurf zu dieser Veröffentlichung liegt indes nicht vor; doch ist mir aus gelegentlichen Äußerungen EBERHARDTs die Fragestellung und die Deutung seiner Ergebnisse in den wesentlichen Grundzügen bekannt, und die Versuchsprotokolle sind so übersichtlich und ausführlich, daß eine kurze Darstellung der Ergebnisse im Sinne des Verstorbenen als nicht zu großes Wagnis erscheint. Trotz alledem muß die Arbeit notwendigerweise ein Fragment bleiben, und wir müssen uns teilweise mit Andeutungen begnügen, die dann vielleicht von anderer Seite vervollständigt werden können. Insbesondere ist es dem Außenstehenden nahezu unmöglich, ein Urteil darüber zu fällen, ob die Anzahl der Versuche für jeden der daraus gezogenen Schlüsse ausreichend ist. Außerdem konnte naturgemäß die einschlägige Literatur nicht in dem Maße verarbeitet werden, wie es der Autor für angebracht gehalten hätte.

Wertvolle Hinweise verdanke ich der Witwe des Autors, Frau DOROTHEE EBERHARDT, und Herrn Dr. H. SCHRAUDOLF. Im Namen des Verstorbenen danke ich Frl. K. AXT für technische Unterstützung sowie der Deutschen Forschungsgemeinschaft für Sachbeihilfen.

Hier sollte die Frage an der Anthocyanbildung untersucht werden. Zwar konnte EBERHARDT (1954) wahrscheinlich machen, daß die fördernde Wirkung zugesetzten Zuckers auf die Anthocyansynthese in erster Linie auf einer Bereitstellung energiereicher Phosphatbindungen beruht, doch ist daneben zweifellos mit einem vermehrten Anfall der notwendigen Bausteine aus dem Kohlenhydrat-Intermediärstoffwechsel als förderndem Faktor zu rechnen (vgl. auch EBERHARDT 1958). Daher erscheint die Prüfung der Frage lohnend, ob die Anthocyansynthese mit einem primären Vorgang wie der Proteinsynthese in Konkurrenz um die Vorstufen treten kann. Wie sich im folgenden zeigen wird, hat sich diese Erwartung erfüllt.

Material und Methodik

Die Versuche wurden mit *Saxifraga crassifolia* L. durchgeführt. Wie bei EBERHARDT (1954) angegeben, wurden möglichst gleichmäßig über das ganze Blatt ausgestanzte Blattstücke von 1 cm^2 auf 20 ml einer wäßrigen Lösung der zu untersuchenden Substanzen gelegt. Die Petri-Schalen mit den Blattstücken standen einige Tage bei 21° C entweder in völliger Dunkelheit oder im Licht-Dunkel-Wechsel (14:10 Std) unter 4 Osram-Leuchtstoffröhren (je 2 HNT und HNW), Beleuchtungsstärke etwa 1200 Lux; dieser Licht-Dunkel-Wechsel wird im folgenden kurz als „Licht" bezeichnet. Grundsätzlich gleiche Ergebnisse konnten gewonnen werden, wenn die Blattstücke mit den Testlösungen infiltriert und dann in der feuchten Kammer gehalten wurden. Diese Methode wurde in den Versuchen angewendet, in denen parallel die Atmungsgröße gemessen wurde.

Zur Anthocyanbestimmung wurde das Material nach 5—8tägiger Versuchsdauer 2mal 14—24 Std in 10 ml 25% Iso-Propanol/1% HCl extrahiert und der auf 25 ml aufgefüllte Gesamtextrakt bei 530 mμ (Schichtdicke 1 cm) im Spektralphotometer photometriert. Angegeben werden die Extinktionswerte, die unter diesen Bedingungen der Konzentration des Farbstoffes proportional sind. Die Bestimmung des Protein-N erfolgte aus dem Rückstand der Anthocyanextraktion mit der Kjeldahl-Methode nach Ausfällung der Proteine durch Trichloressigsäure (10%).

Versuchsergebnisse

Auf 0,1 mol Rohrzucker schwimmende Blattstücke bilden erheblich mehr Anthocyan als auf Wasser schwimmende, in Übereinstimmung mit den früheren Versuchen. Ebenso bestätigte sich wieder die Beobachtung, daß die Anthocyansynthese durch Licht stark gefördert wird; dieser früher für *Saxifraga* nur *qualitativ* angegebene Befund (EBERHARDT 1954) kann jetzt auch durch Zahlen belegt werden (Abb. 1a). Wesentlich ist nun die Wirkung einer zusätzlichen Gabe von Harnstoff[1]. Wie die Abb. 1a zeigt, wird hierdurch die Anthocyanbildung wieder herabgesetzt, und zwar in den meisten Fällen bis etwa auf den Kontrollwert ohne Zucker. Die Förderung durch Zucker kann also durch die gleichzeitige Harnstoff-Fütterung völlig aufgehoben werden. Die Konzentration des Harnstoffs scheint dabei in dem untersuchten Bereich nur

[1] Eine Bestätigung der Ergebnisse durch Fütterung mit Nitrat war vorgesehen, kam aber nicht mehr zur Ausführung.

von untergeordneter Bedeutung zu sein. Die als Nebenerscheinung beobachtete Bildung brauner Pigmente wird demgegenüber durch Harnstoff etwas erhöht.

Um sicherzugehen, daß die Ergebnisse nicht durch einen osmotischen Effekt des Harnstoffs verursacht werden, erhielt die Zuckerkontrolle einen Zusatz von $3 \cdot 10^{-2}$ mol Mannit, entsprechend der mittleren Harnstoffkonzentration. Die physiologische Unwirksamkeit des Mannits bei der Anthocyanbildung war bereits nachgewiesen worden (EBERHARDT 1954).

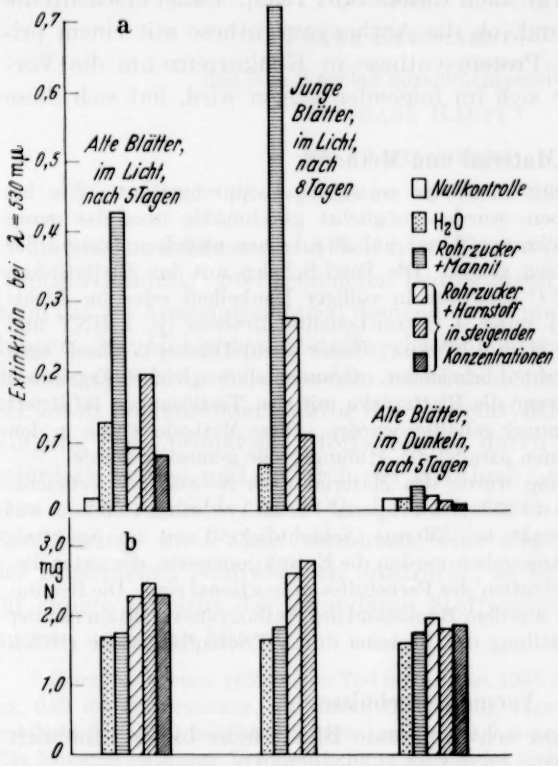


Abb. 1a u. b. a Anthocyangehalt bzw. b Protein-N von *Saxifraga*-Blattstücken, die auf verschiedenen Lösungen schwimmen. Nullkontrolle: Bestimmung vor Versuchsbeginn. H_2O: Keine Zusätze zum Wasser. Rohrzucker: 0,1 mol. Mannit: $3 \cdot 10^{-2}$ mol. Harnstoff: $1-3-6 \cdot 10^{-2}$ mol. Ordinate: Relativer Anthocyangehalt (Extinktion) bzw. Protein-N in mg

Daß es sich hier nicht um eine indirekte Harnstoffwirkung handelt, etwa vermittelt durch plasmatische Zustandsänderungen, sondern daß tatsächlich die Proteinsynthese durch die Harnstoffgabe gesteigert wurde, läßt Abbildung 1b erkennen. Offensichtlich ist im unbehandelten Blatt der Stickstoff begrenzender Faktor der Proteinsynthese, wie aus der Unwirksamkeit der Zukkerzufuhr hervorgeht. Somit wären auch bei diesem Objekt die Bedingungen erfüllt, die PAECH an derartige vergleichende Untersuchungen zwischen Primär- und Sekundärstoffwechsel stellte.

Ergänzend zu Abb. 1 muß noch bemerkt werden, daß die Anthocyanbestimmung bei Versuchsende keine vollständige Beschreibung der Anthocyanbildung darstellt. Dies geht daraus hervor, daß (nach rein qualitativer Beobachtung) die Farbstoffbildung bei den jungen Blättern langsamer beginnt als bei den alten, daß aber offenbar die jungen Blätter nach einigen Tagen aufholen (der höhere Endwert bei den letzteren ist auf die längere Versuchsdauer zurückzuführen). Eine Ergänzung der

Untersuchungen durch fortlaufende Farbstoffanalysen scheint daher dringend erwünscht. Die grundlegenden Unterschiede im Proteinstoffwechsel alter und junger Pflanzen wären dabei zu berücksichtigen.

Daß die Atmung durch Zuckerzufuhr erhöht wird, ist verständlich. Interessant ist nun, daß Harnstoffzugabe die Atmungsgröße noch weiter steigern kann (Tabelle). In diesem Zusammenhang wurde noch die Wirkung von Chloramphenicol (CA) auf Atmung und Anthocyanbildung untersucht, da diese Substanz nach HAROLD und ZIPORIN (1958) die Eiweißsynthese hemmen soll. Wurde CA zusätzlich zu Zucker + Harnstoff gegeben, so wurde die Atmung nur unwesentlich gehemmt; sie

Tabelle. *Saxifraga crassifolia. Atmungsgröße und Anthocyangehalt isolierter Blattstücke nach Infiltration verschiedener Lösungen*

Infiltrierte Lösung[1]	Atmung (mm^3 O_2/Std)			Anthocyan, relativer Gehalt nach 6 Tagen
	vor	24 Std nach	48 Std nach	
	Infiltration			
H_2O	58	124	100	0,087
RZ	57	153	172	0,147
RZ + HS . . .	61	185	238	0,132
RZ + HS + CA	51	173	174	0,061

[1] RZ = Rohrzucker 0,1 mol; HS = Harnstoff $6 \cdot 10^{-2}$ mol; CA = Chloramphenicol (Chloromycetin) 1 mg/ml.

unterschritt keinesfalls den Wert für Rohrzucker allein (Tabelle). Die Anthocyansynthese war dagegen bei der sehr hohen CA-Konzentration völlig sistiert. Auch die braunen Pigmente traten hier nicht in Erscheinung. Proteinbestimmungen fehlen.

Ferner muß noch eine gelegentliche Nebenbeobachtung erwähnt werden. Zuckerzufuhr führte bei den im Dunkeln gehaltenen Blattstücken zu einem Chlorophyllverlust.

Diskussion und Zusammenfassung

Die Vorstellung von der Konkurrenz verschiedener Synthesevorgänge um gemeinsame Vorstufen erfährt durch die hier mitgeteilten Untersuchungen eine weitere Stütze. Insbesondere zeigt sich, daß sekundäre Prozesse wie die Anthocyansynthese hinter primären Prozessen wie der Proteinsynthese zurückstehen müssen, wenn die Voraussetzungen für diese gegeben sind: Die durch Zuckerzufuhr geförderte Anthocyansynthese wird durch zusätzlichen Stickstoff (in Form von Harnstoff) wieder gehemmt bei gleichzeitiger Steigerung der Proteinsynthese. Ergänzende Atmungsbestimmungen runden das Bild ab. Allerdings kann die Möglichkeit wohl noch nicht ganz ausgeschlossen werden, daß die untersuchten Prozesse um energiereiche Verbindungen statt um gemeinsame Vorstufen (oder um beides) miteinander konkurrieren.

Literatur

EBERHARDT, F.: Über die Beziehungen zwischen Atmung und Anthocyansynthese. Planta (Berl.) **43**, 253—287 (1954). — Stoffwechsel organischer Verbindungen. II. Fortschr. Bot. 1957, **20**, 169—199 (1958). — HAROLD, F. M., and Z. Z. ZIPORIN: The relationship between the synthesis of DNA and protein in *Escherichia coli* treated with sulfur mustard. Biochim. biophys. Acta **28**, 492—503 (1958). — PAECH, K.: Carotinoidbildung und Stickstoffumsatz. Planta (Berl.) **48**, 587—591 (1957).

Doz. Dr. W. HAUPT,
Botanisches Institut der Universität, Tübingen, Wilhelmstr. 5

Aufnahmebedingungen

Die Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören und wissenschaftlich Neues bringen. Arbeiten, die ausschließlich praktischen Zwecken dienen, scheiden aus.

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben und völlig druckfertig sein; andernfalls sind Verzögerungen im Erscheinen unvermeidlich. Korrekturen im Satz müssen auf das sachlich Notwendige beschränkt werden.

Für die Rechtschreibung ist die „Wissenschaftliche Rechtschreibung nach JANSEN" maßgebend, mit der die Schreibung der Termini im „Handwörterbuch der Naturwissenschaften" (Jena 1931—1934) im wesentlichen übereinstimmt. Wenn nötig, wird die Angleichung durch die Herausgeber bzw. durch die Druckerei vorgenommen.

Die Darstellung soll möglichst kurz sein. Ergebnisse dürfen nicht gleichzeitig in Tabellen- und Kurvenform dargestellt werden.

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, insbesondere die Reproduktion von Photographien. Einzelfiguren einer Abbildung sind, falls es sich um Vorlagen für Strichätzungen handelt, wenn möglich so zusammenzustellen, daß sie in *einem* Klischee bei gleicher Verkleinerung reproduziert werden können. Buchstaben u.a. sind mit Bleistift beizufügen.

Die Texte zu den Abbildungen sind auf eigenem Blatt gesammelt beizugeben.

Bei einleitenden Literaturbesprechungen soll möglichst auf zusammenfassende Darstellungen verwiesen und nur das zum unmittelbaren Verständnis Notwendige gebracht werden.

Der Arbeit ist eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse (höchstens 1 Seite) anzufügen, die in Deutsch oder Englisch oder Französisch abgefaßt sein kann.

Zu den Literaturverzeichnissen: Bei Zeitschriftenartikeln sollen der Titel sowie erste und letzte Seite angegeben werden. In den Titeln von Büchern aller Sprachen sollen, zur Kennzeichnung gegenüber Artikeln in Zeitschriften, Substantiva wie Adjektiva groß, dagegen in den Abkürzungen von Zeitschriftentiteln die Substantiva groß und die Adjektiva klein geschrieben werden (z. B. Cell Res., aber cell. Physiol.).

Praxis der Mikrophotographie

Von **Hans-Henning Heunert.** Zweite Auflage. Mit 80 Abbildungen in 120 Einzeldarstellungen. VII, 96 Seiten Gr.-8°. 1959. Ganzleinen DM 19.80

Inhaltsübersicht: **Die mikrophotographische Apparatur.** Die Mikroskoptypen und ihre Anwendungsmöglichkeiten in der Mikrophotographie. Die notwendigsten optischen Grundbegriffe. Objektive. Okulare. Lichtquellen. Beleuchtungsapparate (Kondensoren). Die mikrophotographischen Kameratypen. — **Die mikroskopischen Untersuchungsverfahren.** Untersuchungsverfahren im durchfallenden Licht. Untersuchungsverfahren im auffallenden Licht. Spezielle mikroskopische Untersuchungsarten. — **Die mikrophotographische Aufnahme.** Das Aufnahmematerial. Die Wahl der Farbfilter. Die Lichtmessung. Die Scharfeinstellung und Belichtung. Die Negativentwicklung. Das Positiv-Verfahren. Die Farbaufnahme. — **Ratschläge aus der Praxis für die Praxis.** — **Anhang.** — Sachverzeichnis.

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Papierchromatographie in der Botanik

Bearbeitet von U. Beiss, H. Dörfel, K. Fujisawa, R. Hänsel, A. Hager, H. R. Hohl, H. F. Linskens, H. Machleidt, K. Makino, G. Marten, G. A. J. van Os, B. Prijs, H. W. J. Ragetli, A. Romeike, B. D. Sanwal, H. Schweppe, H. Seiler, S. P. Sen, L. Stange, E. Stein von Kamienski, C. A. Wachtmeister, J. P. H. van der Want, S. Yamatodani. Herausgegeben von **H. F. Linskens.** Zweite, erweiterte Auflage. Mit 124 Abbildungen und 2 Farbtafeln. XVI, 408 Seiten Gr.-8°. 1959. Ganzleinen DM 58.—

Inhaltsübersicht: **Allgemeiner Teil:** Theorie der Papierchromatographie. Von G. A. J. van Os. — Einrichtung eines papierchromatographischen Laboratoriums. Von H. F. Linskens. — Techniken. Von H. F. Linskens. — Papiere. Von H. F. Linskens. — Aufbereitung. Von H. F. Linskens. — Auftragen und Trocknen. Von H. F. Linskens. — Fehlerquellen. Von H. F. Linskens. — Auswertung und Dokumentation. Von H. F. Linskens. — Isotopentechnik. Von B. D. Sanwal. — **Spezieller Teil:** Anorganische Kationen und Anionen. Von H. Seiler und B. Prijs. — Kohlenhydrate. Von L. Stange. — Organische Säuren. Von H. Schweppe. Flechtensäuren. Von C. A. Wachtmeister. — Phosphatide und komplexe Lipide. Von U. Beiss. — Proteine und ihre Bausteine: Aminosäuren. Von H. Dörfel. Peptide. Von H. Dörfel. Proteine und Proteide. Von H. F. Linskens. Enzyme. Von H. F. Linskens. — Nucleinsäuren und ihre Bausteine. Von K. Fujisawa und K. Makino. — Pflanzenviren. Von H. W. J. Ragetli und J. P. H. van der Want. — Farbstoffe: Die Chloroplastenfarbstoffe. Von A. Hager. Zellsaftlösliche Pigmente (Anthocyane und Flavonoide). Von R. Hänsel. — Wirkstoffe: Wachstumsregulatoren und verwandte Stoffe. Von S. P. Sen. Vitamine. Von G. Marten. — Hemmstoffe: Antibiotica. Von S. Yamatodani. Toxine. Von H. R. Hohl. — Aldehyde und Ketone. Von H. F. Linskens. — Phenolische Verbindungen und Gerbstoffe. Von H. F. Linskens. — Organische Basen: Amine. Von E. Stein von Kamienski. Alkaloide. Von A. Romeike. — Sterine, Steroide und verwandte Verbindungen. Von H. Machleidt. — **Fachausdrücke der Papierchromatographie.** Von H. F. Linskens. — Sachverzeichnis. — Literatur zu jedem Beitrag.

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg
Printed in Germany